

TRAVAIL DE L'INSTITUT PASTEUR DE PARIS
(Laboratoire de la Peste)

FACULTE DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1921

THÈSE

N° 483

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

A.-C.-J. SIMARD

LA

Réaction de Fixation de l'Alexine

Son application au diagnostic sérologique de la Peste

Président : M. F. BEZANÇON, professeur

A. MALOINE ET FILS, ÉDITEURS

27 — RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE — 27

PARIS 1921

483

THÈSE
POUR
LE DOCTORAT EN MÉDECINE

TRAVAIL DE L'INSTITUT PASTEUR DE PARIS
(Laboratoire de la Peste)

FACULTE DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1921
—

THÈSE

N° —

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

A.-C.-J. SIMARD

LA

Réaction de Fixation de l'Alexine

Son application au diagnostic sérologique de la Peste



Président : M. F. BEZANÇON, professeur

A. MALOINE ET FILS, ÉDITEURS

27 — RUE DE L'ÉCOLE - DE - MÉDECINE — 27

PARIS 1921

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

LE DOYEN : M. ROGER
ASSESEUR : G. POUCHET
PROFESSEURS

	MM.
Anatomie.	NICOLAS
Anatomie médico-chirurgicale	CUNEO
Physiologie.	Ch. RICHET
Physique médicale	ANDRÉ BROCA
Chimie organique et Chimie générale	DESGREZ
Bactériologie	BEZANÇON
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	BRUMPT
Pathologie et Thérapeutique générales.	MARCEL LABBÉ
Pathologie médicale	RENON
Pathologie chirurgicale.	LECENE
Anatomie pathologique.	LETULLE
Histologie.	PRENANT
Clinique thérapeutique chirurgicale.	PIERRE DUVAL
Pharmacologie et matière médicale	POUCHET
Thérapeutique	CARNOT
Hygiène	BERNARD
Médecine légale.	BALTHAZARD
Histoire de la médecine et de la chirurgie	MENETRIER
Pathologie expérimentale et comparée.	ROGER
Clinique médicale.	ACHARD
	WIDAL
	GILBERT
	CHAUFFARD
	MARFAN
	NOBECOURT
Hygiène et clinique de la 1 ^{re} enfance	DUPRÉ
Clinique des maladies des enfants.	JEANSELME
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.	PIERRE MARIE
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.	TEISSIER
Clinique des maladies du système nerveux.	DELBET
Clinique des maladies contagieuses	GOSSET
Clinique chirurgicale	LEJARS
	HARTMANN
Clinique ophtalmologique	DE LAPERSONNE
Clinique des maladies des voies urinaires.	LEGUEU
Clinique d'accouchements	BAR
	COUVELAIRE
	BRINDEAU
Clinique gynécologique.	J.-L. FAURE
Clinique chirurgicale infantile	AUGUSTE BROCA
Clinique thérapeutique.	VAQUEZ
Clinique d'Oto-rhino-laryngologie.	SEBILEAU

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.			
ABRAMI	DUVOIR	LARDENNOIS	RATHERY
ALGLAVE	FIESSINGER	LELORIER	RETTERRER
BASSET	GARNIER	LEMIERRE	RIBIERRE
BAUDOUIN	GOUGEROT	LEQUEUX	RICHAUD
BLANCHETIERRE	GREGOIRE	LEREBoullet	ROUSSY
BRANCA	GUENIOT	LERI	ROUVIERE
CAMUS	GUILLAIN	LEVY-SOLAL	SCHWARTZ(A.)
CHAMPY	GUILLEMINOT	MATHIEU	TANON
CHEVASSU	HEITZ-BOYER	METZGER	TERRIEN
CHURAY	JOYEUX	MOCQUOT	TIFFENEAU
CLERC	LABBÉ HENRI	MULON	VILLARET
DEBRE	LAIGNEL-LAVASTINE	OKINCZYC	
DESMAREST	L'ANGLOIS	PHILIBERT	

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MES CHERS PARENTS

*Dont la vie, toute de bonté et de
charité, est la plus noble expression
de l'idéal médical.*

A MES MAITRES

A MES AMIS

A Monsieur le Docteur ÉMILE ROUX

Directeur de l'Institut Pasteur

et

A Monsieur le Professeur ALBERT CALMETTE

Sous-Directeur de l'Institut Pasteur

*En hommage de respectueuse
gratitude pour leur particulière
bienveillance.*

A NOS MAÎTRES

Monsieur le Professeur FERNAND BEZANÇON

Professeur de Bactériologie à la Faculté de Médecine

*Qui, après nous avoir tant
donné de preuve de sympathie, a
bien voulu nous faire l'honneur
d'accepter la présidence de notre
thèse, nous adressons l'expression
bien sincère de notre profonde
reconnaissante.*

Monsieur le Professeur FERNAND WIDAL

Professeur de Clinique médicale à la Faculté de Médecine

*Qui, pendant les deux années
que nous avons passées en qualité
d'externe dans son service de l'hô-
pital Cochin, nous a permis de
comprendre et d'aimer la méde-
cine, nous offrons ce faible témoi-
gnage de respectueuse et dévouée
reconnaissance.*

PRÉFACE

Au début de l'épidémie de peste bubonique qui a frappé la banlieue et les arrondissements périphériques de Paris au cours de l'été dernier (1), une certaine hésitation se manifesta parmi les médecins, pour l'affirmation du diagnostic positif des premiers cas considérés cliniquement comme suspects ; hésitation bien légitime, si l'on songe d'abord à l'invraisemblance d'une pareille hypothèse, la peste n'ayant plus fait d'apparition dans notre ville depuis l'année 1630, et ensuite à la crainte de l'émotion naturelle que pouvait susciter dans le public, sur la foi des récits horribles de jadis, l'annonce d'un pareil événement ! Mais le vrai, quelquefois, peut n'être pas vraisemblable, et c'était pourtant bien elle qui s'annonçait parmi nous. M. le Dr Dujardin-Beaumetz, qui dirige avec une expérience déjà longue et une compétence toute spéciale, le service du laboratoire de la peste à l'Institut Pasteur, confirma le diagnos-

1. Dans l'ensemble, 92 cas confirmés : 51 à Paris et 41 en banlieue, 40 cas, où la sérothérapie n'a pas été appliquée, avec 32 morts soit 80 o/o ; 52 cas, ayant reçu du sérum, avec 2 morts soit 3,9 o/o.

tic par les méthodes bactériologiques habituelles, levant ainsi les derniers doutes permis.

En sa compagnie, M. le Dr Joltrain, spécialement chargé, en qualité de médecin des épidémies, de l'étude épidémiologique des cas signalés, se livra à une enquête approfondie et pleine d'intérêt, qui permit de suivre, de façon précise, l'évolution quotidienne de la maladie. C'est au cours des recherches de ces deux auteurs, que, frappés tous deux de l'inconstance fréquente des résultats obtenus par les méthodes bactériologiques classiques dans le diagnostic de la peste, Joltrain eut l'idée d'appliquer à celui-ci la réaction de Bordet-Gengou, idée féconde que devait bientôt récompenser le succès complet de la technique préconisée. Partageant alors ces recherches, c'est le résultat de nos observations et des idées qu'elle nous ont suggérées, que nous allons exposer ici.

Mais avant toute chose, c'est pour nous, non pas un devoir suivant la banale formule consacrée, mais un véritable plaisir, que de profiter de cette occasion pour témoigner notre très vive reconnaissance à notre excellent maître et ami M. Dujardin-Beaumetz pour l'accueil si aimable et la place si grande, qu'avec sa coutumière bonne grâce, il a bien voulu nous faire dans son laboratoire, et à notre cher ami Joltrain, auquel nous lie depuis longtemps déjà une solide affection, pour les multiples occasions où il nous a sans cesse prodigué les avantages de ses brillantes qualités de biologiste et de clinicien.

Au cours des pages qui vont suivre, nous exami-

nerons, dans un premier chapitre qui nous a paru indispensable pour l'enchaînement logique des idées, l'évolution historique de nos connaissances sur l'Immunité, avec leurs conséquences naturelles diagnostiques, thérapeutiques et prophylactiques dans un grand nombre de maladies infectieuses, conséquences dont l'importance et la multiplicité semblaient pouvoir permettre de fructueuses applications dans l'étude de la peste.

Dans un deuxième chapitre, nous ferons une analyse critique de la réaction de fixation de l'alexine en général. Etudiant d'abord la succession des expériences qui en ont permis la conception puis la réalisation, nous verrons ensuite quels obstacles pratiques en ont imposé le perfectionnement. Même alors, nous verrons quels résultats contradictoires elle est susceptible de fournir et quelles sont, à notre avis, les conditions idéales qu'elle doit réaliser pour occuper en clinique la place qu'elle mérite et ne plus être seulement une curiosité de laboratoire ou un sujet de discussions oiseuses.

Nous préciserons dans un troisième chapitre, l'importance prépondérante que notre expérience permet de lui assigner parmi les méthodes de diagnostic employées couramment jusqu'ici dans la peste. Nous montrerons comment celles-ci, qui n'avaient pas encore bénéficié avant nous des progrès de la sérologie, sont notablement insuffisantes non seulement à la période d'état des formes de moyenne intensité mais encore et surtout au cours de toute l'évolution

des formes frustes et ambulatoires dont la connaissance actuelle ou rétrospective peut avoir des conséquences si importantes au point de vue de l'épidémiologie et de la prophylaxie internationales.

Enfin, après l'exposé détaillé de notre technique et l'examen d'ensemble de nos statistiques, nous formulerons, sur la valeur intrinsèque de la méthode, les conclusions auxquelles nous sommes arrivés après en avoir fait, sans parti-pris d'auteur, une étude consciencieuse depuis bientôt près d'un an.

Volontairement, nous avons banni de cet exposé, toute discussion dogmatique sur les théories souvent si nombreuses et toujours contradictoires qui tendent, par tous les moyens, d'expliquer la cause intime des phénomènes envisagés ou même seulement d'interpréter la nature exacte des propriétés que nous leur reconnaissons, renvoyant, pour plus de détails au magistral *Traité de l'Immunité dans les maladies infectieuses* de Jules Bordet.

Nous avons voulu rester sur le terrain des faits expérimentaux, sachant par expérience quelles obscurités et quelles complications engendrent les mots et si nous avons pu seulement faire œuvre claire et d'utilité pratique dans la lutte contre la peste, nous estimerons notre but largement atteint.

La Réaction de fixation de l'Alexine

SON APPLICATION
AU DIAGNOSTIC SÉROLOGIQUE DE LA PESTE

CHAPITRE I

APERÇU GÉNÉRAL DE L'ÉVOLUTION DE NOS CONNAISSANCES SUR L'IMMUNITÉ

Leurs applications pratiques au diagnostic, au traitement et à la prophylaxie des maladies infectieuses ; les espoirs que l'on pouvait en déduire pour l'étude de la peste.

S'il fallait, jetant une vue d'ensemble sur les travaux qui ont illustré tous les domaines de la vie médicale de ces quarante dernières années, en dégager le sens pour caractériser l'évolution scientifique de la médecine contemporaine, où pourrait-on trouver plus vaste champ d'études que dans la multiplicité remarquable des recherches biologiques de toutes sortes qui ont créé d'abord, puis élargi sans cesse ensuite, le domaine de l'immunité ?

N'est-ce point là d'ailleurs suite normale et logique des événements et comment pourrait-on s'en étonner ?

Lorsque Pasteur, inaugurant par l'étude des phénomènes de la fermentation et de la putréfaction ses découvertes fondamentales dans le domaine de la

microbiologie, nous eut mis ainsi en mesure d'étudier directement la cause des maladies transmissibles, une partie seulement du problème était posée. C'est vers 1880, en compagnie de ses collaborateurs Roux et Chamberland, que, par sa mémorable réalisation de l'atténuation des virus et des vaccinations préventives, il jeta vraiment les bases de la science de l'immunité.

Dans les années qui suivirent, sous l'impulsion de ses idées et de sa technique nouvelle, se précisa la connaissance des différents microbes, dont la multiplicité ne fit qu'illustrer davantage le caractère primordial de spécificité et de virulence.

Puis, les connaissant mieux, il devenait facile de déterminer plus exactement les possibilités de leur rôle pathogène, et c'est en 1887, la publication du mémoire fondamental de Roux et Yersin sur la toxine diphtérique et l'affirmation du principe capital de toxicité. Celui-ci devait d'ailleurs bientôt déborder le cadre de la microbiologie pure et se retrouver avec ses caractères particuliers dans les différents organismes du règne végétal et animal et notamment dans l'étude des propriétés des venins de serpents, bien connus maintenant depuis les travaux de Calmette et d'Arthus.

Ainsi en possession d'éléments certains tels que microbes, virulence et toxicité, pour l'étude des conditions d'attaque de l'organisme, il devenait matériellement possible et naturellement logique de préciser les modalités de la défense.

Celles-ci furent établies d'abord par Metchnikoff, dont les premières observations, relatives à la propriété de digestion intra-cellulaire de l'épithélium intestinal chez certains Turbellariés, amenèrent leur auteur à la découverte des phagocytes macrophages et microphages, à l'étude exacte de leurs propriétés diverses, et en généralisant l'importance du phénomène de la digestion intra-cellulaire dans la lutte de l'organisme contre le microbe, à faire de la phagocytose, le fondement même de la doctrine de l'immunité cellulaire.

Quelques années plus tard, à la suite des essais de thérapeutique antistaphylococcique par injections de sérums d'animaux immunisés tentés par Richet et Héricourt, Behring et Kitasato furent amenés à la découverte de la fonction antitoxique dont l'importance fut encore soulignée par Roux à propos de la sérothérapie antidiphthérique. Et c'est ainsi que se développa la première conception des antigènes et des anticorps, événement mémorable qui inaugurerait l'ère des découvertes sérologiques et contenait en puissance les éléments fondamentaux de l'étude des immunsérums qui devait donner peu à peu naissance à la doctrine de l'immunité humorale.

Mais jusqu'alors, quelle qu'ait été l'importance des acquisitions nouvelles et successives concernant l'interprétation de nos données expérimentales sur les phénomènes de l'immunité, celle-ci, malgré tout, demeurerait limitée à l'étude des processus d'attaque et de défense qui commandent la pathogénie et l'évo-

lution des seules maladies infectieuses, et l'on ne pouvait encore se représenter comme types d'antigènes connus et spécifiques que des substances tirant leur origine des organismes microbiens, des toxines ou des venins. L'immunité, en somme, restait confinée dans le domaine de la médecine pure : son étude représentait seulement un chapitre de la pathologie générale.

Mais c'est alors que les belles et fécondes découvertes de Bordet sur les sérums hémolytiques et sur le phénomène de la réactivation, lui donnèrent toute l'ampleur qu'elle mérite. Sous l'impulsion de ces travaux, en même temps que se développait la notion de la diversité remarquable des antigènes possibles, se précisait aussi la connaissance de toute la gamme des anticorps correspondants. Découverte et étude des pouvoirs agglutinant, bactériolytique, hémolytique, précipitant, cytotoxique, opsonique, congulinant, auxilytique et coagglutinant tels sont dans l'ordre chronologique, les étapes successives de nos acquisitions principales sur les propriétés spéciales des immunsérums.

Ainsi donc se développait logiquement et harmonieusement chaque jour l'étendue de notre compréhension des phénomènes de l'immunité. Son horizon inlassablement, s'étendait et envahissant désormais, en maintes circonstances, le domaine de la physique, de la chimie, de la biologie et de la physiologie générale, l'immunité, peu à peu, prenait figure de science vraiment nouvelle et autonome dont le

but était l'étude des conditions mêmes de la vie.

Mais, science par son champ d'observation spécial et sa technique particulière, l'immunité ne l'aurait point été vraiment sans la consécration des applications pratiques, qui ne furent possibles que grâce à l'affirmation expérimentale du principe capital de la spécificité des anticorps, homologue de la spécificité des antigènes. Dès lors, quittant délibérément le domaine un peu austère de la spéculation scientifique pure, elle entra librement dans celui de la pratique journalière avec tout son cortège de si intéressantes conséquences diagnostiques et thérapeutiques.

Sans parler ici du diagnostic de certitude auquel on arrive dans les diverses maladies infectieuses par l'isolement du microbe spécifique, et son identification bactériologique, de quelle aide puissante n'a pas été l'examen des propriétés humorales dans les affections à germe visible ou filtrant !

C'est l'étude précise des conditions de la phagocytose qui a permis de saisir toute l'importance de la formule leucocytaire, non seulement dans la mesure des éléments figurés du sang, mais aussi dans celle de tous les liquides de réaction des séreuses en général : liquide articulaire, pleural, péritonéal et céphalo-rachidien. Ainsi est né le cytodagnostic de Widal et Ravaut avec son corollaire le cyto-pronostic dont l'importance est aujourd'hui classique dans l'examen des épanchements organiques de toute nature. De même certains auteurs, en particulier Wright

et Douglas, étudiant spécialement *in vitro* la phagocytose en présence d'immunsérums variés, insistèrent sur les caractères excitophagiques de ces derniers en relation avec la présence des opsonines et introduisirent en clinique la mesure de l'index opsonique et surtout la valeur de la courbe opsonique qui peut rendre des services marqués tant au point de vue diagnostique et pronostique dans la tuberculose (Wright et Bullock), la typhoïde (Milhit), et différents états méningés (Taylor et Houston) qu'au point de vue thérapeutique, dans le contrôle de la méthode vaccinothérapique (Wright) ou dans le dosage de l'activité curative de certains sérums thérapeutiques (Flexner, Kraus).

Mais les recherches entreprises directement sur les anticorps eux-mêmes ne devaient pas être moins fécondes en résultats pratiques.

En 1889 Charrin et Roger, à propos du bacille pyocyanique, furent amenés à constater pour la première fois l'existence de l'agglutination, fait confirmé en 1891 par Metchnikoff pour le *Vibrio Metchnikowi* et le pneumocoque. Bordet en 1895, puis Grüber et Durham, précisèrent les conditions du phénomène à propos des vibrions cholériques et l'année suivante, en 1896, Widal et Sicard appliquèrent le principe de l'agglutination au séro-diagnostic de la fièvre typhoïde. Depuis cette époque, nombreuses furent les affections reconnues susceptibles d'être dépistées par cette technique, parmi lesquelles nous citerons : les paratyphoïdes (Achard et Bensaude), la fièvre de Malte

(Wright), le typhus exanthématique (par la curieuse agglutination du *Proteus* X 19 ou réaction de Weil-Félix), les sporotrichoses (Widal, Abrami, Joltrain et Brissaud), la spirochétose ictéro-hémorragique (Martin, Pettit et Vaudremer), etc... Ajoutons que dans les cas douteux d'agglutination de groupe, une précision plus grande peut être obtenue par l'épreuve de Castellani ou de saturation des agglutinines. Mais en dehors du diagnostic des maladies infectieuses elles-mêmes, l'agglutination peut encore contribuer puissamment à l'identification précise des différentes bactéries ainsi que l'ont établi les travaux de Nicolle et de ses collaborateurs Césari, Debains, Truche et Coton pour le groupe typhique et paratyphique, méningocoque et gonocoque, et pneumocoque.

A côté de l'agglutination, il convient de placer le phénomène de la précipitation qui présente avec elle la plus grande analogie. Découvert par Kraus en 1897, à l'aide de cultures filtrées et limpides de bacilles cholériques et typhiques, étudié ensuite par Tschistovitch, Bordet, Nicolle et d'autres, il a pu être employé avec succès, sous forme de précipito-diagnostic dans un certain nombre de maladies différentes, parmi lesquelles : la méningite cérébro-spinale (Vincent et Bellot), le charbon symptomatique et surtout la morve, soit que l'on emploie directement le sérum des animaux malades (Miessner et Pfeiler) ou les extraits d'organes, et notamment la rate, suivant le procédé d'Ascoli, sans parler de

ses applications en médecine légale (Uhlenhuth), ou pour la répression des fraudes alimentaires.

D'autre part, en 1895, Bordet, reprenant l'étude du phénomène de la bactériolyse, déjà mis en lumière par les constatations précédentes de Behring et Nissen, Pfeiffer et Issaef, fut amené à établir, par son expérience de la réactivation, l'existence dans les immun-sérums, de la sensibilisatrice et de l'alexine, dont la présence fut facilement reconnaissable macroscopiquement *in vitro*, à la suite de la découverte par le même auteur, en 1898, des sérums hémolytiques. Les conséquences pratiques ne furent pas longues à suivre les constatations scientifiques, et l'expérience fut érigée en méthode générale de diagnostic lorsqu'en 1901, Bordet et Gengou montrèrent l'existence d'une sensibilisatrice spécifique décelable dans le sang d'animaux immunisés ou d'individus atteints d'une maladie infectieuse : le séro-diagnostic par la méthode de fixation de l'alexine inaugurerait ainsi l'ère des fructueuses applications cliniques, sur lesquelles nous reviendrons en détail dans la suite de cet ouvrage. Signalons en passant à propos des sérums hémolytiques, la curieuse propriété de la réactivation du venin de cobra par le sérum des sujets tuberculeux, mise en lumière en 1902 par Calmette puis précisée par les travaux de Calmette, Massol, Breton et Guérin, méthode qui, bien que n'étant pas spécifique, a pu néanmoins rendre des services comme réaction auxiliaire de diagnostic de la tuberculose. Et puisque nous parlons de cette affection,

notons que c'est encore grâce à la connaissance des anticorps et aux faits étudiés par Nicolle, démontrant l'existence dans les humeurs des sujets tuberculeux d'une lysine de l'endotoxine tuberculeuse, que se comprend peu à peu maintenant le mécanisme des actions tuberculiniques (1), dont le rôle dans le dépistage précoce de cette redoutable affection, si capital au point de vue individuel et social, est journellement illustré par l'emploi de la sous-cuti-réaction ou de ses modifications heureuses : cuti-réaction de Von Pirquet, intra-dermo-réaction de Mantoux et chez l'enfant ophtalmo-réaction de Wolff-Eisner Calmette.

Enfin, en rapport intime avec ces phénomènes, se créa, grâce aux découvertes de Richet et Portier et d'Arthus, aux travaux originaux de Widal et de ses élèves et à l'ingénieuse méthode de Besredka pour en éviter les manifestations dangereuses, le domaine de l'anaphylaxie qui permit bientôt de comprendre et aussi de traiter avec succès, toute une série de troubles humoraux maintes fois si décevants pour le malade et le médecin.

Mais quelque grande qu'ait été, comme nous venons de le voir rapidement, l'importance des résultats pratiques fournis par la science de l'immunité

1. On sait en effet qu'actuellement, à la suite des recherches de Calmette et Bruyant et de nombreux expérimentateurs, on ne peut plus, contrairement à l'hypothèse de Wassermann et Brück, envisager la réaction tuberculinique chez les tuberculeux comme un phénomène d'anaphylaxie, ou comme le voulait Friedberger, comme un phénomène d'anaphylatoxie.

dans les déterminations microbiennes, la pathogénie et le diagnostic des maladies infectieuses ou de celles qui relèvent d'un trouble de l'état physico-chimique des humeurs, combien secondaire cette importance ne doit-elle pas nous paraître si nous envisageons celle qu'elle a eue dans la thérapeutique de ces mêmes affections !

Sans même vouloir parler de la médication colloïdale, qui relève directement de nos acquisitions sur l'importance biologique des phénomènes humoraux d'adsorption, c'est tout le domaine de l'immunisation passive à l'aide des sérums, de l'immunisation active à l'aide des vaccins et de l'immunisation mixte avec les séro-vaccins, qu'il nous faudrait ainsi parcourir :

Sérothérapie antidiphtérique, antiméningococcique et para-méningococcique, antipneumococcique, antipesteuse, antivenimeuse.

Vaccination ou vaccinothérapie antigonococcique, antipesteuse, antirabique, antistaphylococcique, antityphique et paratyphique, antivariolique,

Tels sont, sèchement énumérés, nos progrès les moins discutables, non seulement dans la thérapeutique mais aussi dans la prophylaxie des maladies contagieuses.

Ainsi ce rapide aperçu historique, en nous montrant les progrès réalisés en médecine par l'enchaînement logique de nos acquisitions successives dans le domaine de l'immunité que notre science française a comme toujours si profondément marqué de son empreinte, nous fait aussi mieux comprendre, quelles

espérances on avait pu en concevoir pour la lutte contre la peste, et quelle déception n'a pas manqué d'apporter, comme nous allons le voir, la faillite, complète jusqu'ici, de ces illusions.

CHAPITRE II

ÉTUDE CRITIQUE GÉNÉRALE DE LA RÉACTION DE FIXATION DE L'ALEXINE

La bactériolyse. Les expériences de Behring et Nissen. Le phénomène de Pfeiffer. Les expériences de réactivation des sérums de Bordet. Sensibilisatrice et Alexine. Caractères respectifs de ces deux substances ou propriétés.

L'hémolyse. La découverte par Bordet des sérums hémolytiques.

L'hémolyse spécifique comme témoin visible de la fixation de l'alexine dans les immunosérums. Applications diagnostiques. Les conditions idéales indispensables pour que la réaction de fixation de l'alexine ait toute sa valeur pratique. Conditions par rapport aux autres moyens de diagnostic. Conditions par rapport à sa nature particulière : spécificité vis-à-vis de l'affection et vis-à-vis de l'antigène ; constance dans les résultats ; rapidité d'apparition et persistance suffisante ; simplicité d'application. Alors son interprétation est facile et sa portée indiscutable.

Au cours de l'historique du chapitre précédent, nous avons esquissé en passant la genèse de nos connaissances sur la réaction de fixation de l'alexine : mais leur enchaînement a une telle importance pour la compréhension exacte de notre sujet, qu'il convient de l'aborder maintenant dans tous ses détails.

En 1891, Behring et Nissen, étudiant à la suite d'inoculations chez l'animal les caractères du *Vibrio*

Metchnikowi (1), constatent *in vitro* un phénomène curieux :

Ensemencés en petite quantité dans un tube de sérum de cobaye neuf, les vibrions se développent aisément.

Par contre :

Ensemencés en même proportion dans un tube de sérum de cobaye immunisé contre eux, les vibrions sont rapidement détruits.

En 1894, Pfeiffer et Issaef, renouvelant l'expérience *in vivo*, arrivent à des constatations analogues, mais plus précises, connues maintenant sous le nom de « Phénomène de Pfeiffer ».

Ces auteurs établissent que :

Injectés en petite quantité dans le péritoine d'un cobaye neuf, les vibrions gardent leurs caractères morphologiques, se multiplient rapidement, causant bientôt la mort de l'animal.

Par contre :

Injectés en même proportion dans le péritoine d'un cobaye immunisé contre eux, les vibrions sont, en quelques instants, complètement transformés en granules, périssent rapidement et sont la proie d'une phagocytose énergique qui détermine bientôt une

1. Spirillum Metchnikowi (Gamaleia) Syn : Vibron de Metchnikoff. Vibron avicide.

Agent d'une maladie infectieuse des poules étudiée par Gamaleia à Odessa. Les symptômes extérieurs sont très voisins de ceux du choléra des poules. Les bactéries du sang ont l'aspect et les dimensions du spirille du choléra. Forme en virgule, spires de 5-10 tours, très mobiles, un cil vibratile à chaque extrémité. Réaction indol. nitreuse toujours intense et d'apparition rapide.

stérilisation totale de la cavité péritonéale et une guérison définitive de l'animal.

Cette bactériolyse, en outre, est spécifique pour chaque vibron vis-à-vis du sérum de l'animal vacciné contre lui et peut par conséquent servir de moyen de diagnostic à l'égard d'un germe inconnu.

En 1895, Bordet, reprenant l'étude de ces phénomènes, précise encore davantage les conditions de l'expérience. Il montre que :

1° Non seulement l'exsudat péritonéal, mais encore le sérum sanguin de l'animal vacciné peut produire la bactériolyse, pourvu que ce sérum soit frais.

En effet :

2° Ce pouvoir bactériolytique du sérum disparaît à la longue par le vieillissement ou immédiatement par chauffage à 55 degrés en trente minutes.

Mais :

3° On peut faire récupérer ses qualités premières à ce sérum privé de son pouvoir bactériolytique en lui ajoutant une certaine quantité, même minime, d'un sérum normal frais quelconque, même d'espèce étrangère et non immunisée.

De ces importantes recherches connues sous le nom « d'expériences de réactivation des sérums » Bordet tire la conclusion que :

La propriété bactériolytique d'un immunsérum est due à l'action combinée de deux substances : l'une qu'il appelle sensibilisatrice, est spécifique de l'immunsérum, thermostable jusqu'à 65 degrés et représente l'anticorps dû à l'immunisation ;

l'autre, qu'il appelle alexine, n'est pas spécifique mais se trouve dans tout sérum normal frais quelconque, est thermolabile à partir de 55 degrés en trente minutes, ou détruite par vieillissement naturel du sérum, pendant une durée variable suivant les circonstances.

D'ailleurs, outre ces caractères particuliers qui permettent déjà de distinguer ces deux substances, on peut encore affirmer leur indépendance complète par la possibilité que l'on a de les séparer directement dans l'organisme même. C'est ainsi en effet que dans le liquide d'œdème obtenu par compression veineuse la sensibilisatrice passe, l'alexine, au contraire, étant retenue dans le système capillaire.

Quant au mécanisme intime par lequel la sensibilisatrice et l'alexine permettent la transformation en granules de l'antigène, en l'espèce les vibrions, Bordet a montré qu'il est une loi générale qui veut que la sensibilisatrice s'unisse à l'antigène, en conférant au complexe nouveau ainsi formé, sensibilisatrice + antigène, la propriété de fixer énergiquement par adsorption, l'alexine, qui disparaît alors complètement du milieu ambiant. Grâce à ce phénomène de fixation de l'alexine, celle-ci incorporée au microbe, peut désormais exercer sur lui son action spéciale, dans le cas particulier la bactériolyse.

Maintenant que nous sont connues, au moins dans leur ensemble, les conditions du phénomène de Pfeiffer, il est facile de saisir aussitôt toute l'importance de la réaction de fixation de l'alexine, dont

nous savons la spécificité, pour le diagnostic précis d'une infection de nature inconnue.

Supposons, pour fixer les idées, que nous voulions, à l'aide de cette méthode, diagnostiquer chez un cobaye la nature exacte d'une infection vibriennienne indéterminée : Prélevons chez lui une certaine quantité de sang, 5 centimètres cubes en moyenne, centrifugeons pour obtenir un sérum clair. Ce sérum frais contient, nous le savons, une alexine comme tout sérum frais, et une sensibilisatrice comme tout immunsérum, mais spécifique, qui, lorsqu'elle sera en présence de son antigène et de lui seul, en l'espèce le microbe causal de l'infection, permettra à l'alexine de se fixer sur lui et de le bactériolyser.

En présence d'une goutte de ce sérum frais, contenant donc alexine et sensibilisatrice spécifique, mettons une goutte d'émulsion de vibrions cholériques et examinons au microscope : les vibrions restent mobiles et gardent tous leurs caractères, c'est donc que l'alexine ne s'est pas fixée sur eux ; c'est donc aussi que la sensibilisatrice spécifique vis-à-vis des vibrions cholériques et indispensable à l'alexine pour se fixer sur eux et les bactériolyser, manquait dans notre sérum : le vibron cholérique n'est par conséquent pas l'agent de l'infection de notre cobaye.

Recommençons dans les mêmes conditions avec une goutte d'émulsion d'un autre vibron, celui de Finckler-Prior (1), par exemple : de nouveau le micros-

1. *Spirillum Finckleri* (Finckler et Prior). Syn. : *Vibrio proteus* de Buchner.

cope ne nous montre aucune bactériolyse : nous pouvons donc encore une fois affirmer que la sensibilisatrice spécifique que nous savons être contenue dans notre sérum n'est pas en relation avec le vibrion considéré.

Recommençons encore, mais cette fois avec du *Vibrio Metchnikowi*. Le microscope nous montre bientôt nos vibrions transformés en granules, cette fois l'alexine s'est fixée sur eux pour les bactériolyser : c'est donc que la sensibilisatrice contenue dans notre sérum s'est unie au vibrion de Metchnickoff pour permettre sa bactériolyse par l'alexine ; et comme nous savons que cette sensibilisatrice ne peut se comporter ainsi qu'en présence du seul germe vis-à-vis duquel elle est spécifique, nous pouvons, par cette fixation positive de l'alexine traduite à nos yeux par la bactériolyse, conclure avec certitude que le microbe de l'infection de notre cobaye est sûrement et seulement le *Vibrio Metchnikowi*.

L'exemple considéré nous montre ainsi que la méthode de fixation de l'alexine peut nous fournir déjà deux ordres de renseignements : d'abord, au point de vue clinique, le diagnostic de la maladie infectieuse au cours actuel de son évolution ; et ensuite, au point de vue bactériologique, l'identi-

Isolé par Finckler dans les parties solides des selles d'individus atteints de choléra nostras, au début de l'affection. A produit une septicémie chez le pigeon après inoculation dans le muscle pectoral, d'une culture sur gélose. Caractères morphologiques analogues à celui du Spirille du choléra. Réaction indolnitreuse peu intense et d'apparition tardive.

cation exacte, souvent si difficile par les autres méthodes, d'un germe quelconque par rapport à d'autres germes très voisins du même groupe. Nous verrons ultérieurement que cette méthode si précieuse est encore capable de fournir des précisions intéressantes à d'autres points de vue.

Jusqu'à présent, nous avons vu que la présence de la sensibilisatrice spécifique d'un immunsérum ayant comme corollaire immédiat la fixation de l'alexine sur le complexe sensibilisatrice + antigène, se traduisait à nos yeux par la constatation microscopique de la bactériolyse. Mais si nous ne pouvions mettre en évidence la réaction de fixation de l'alexine que de cette seule manière, malgré tout son intérêt scientifique, cette méthode serait restée forcément très limitée dans ses applications à la clinique et au laboratoire. C'est qu'en effet la bactériolyse n'est évidente qu'avec un nombre restreint de germes suffisamment sensibles et présentant des caractères morphologiques assez spéciaux, pour permettre sa mise en évidence avec toute la netteté désirable. Lorsqu'elle ne se manifeste pas quand on expérimente, ce qui est fréquent, sur des bacilles résistants, comment alors traduire de façon perceptible à nos sens la réalisation du phénomène cherché ? Ici encore les travaux de Bordet, amenant leur auteur à la découverte des sérums hémolytiques, donnèrent à ses recherches antérieures tout le développement pratique qu'elles comportaient.

En 1898, en effet, Bordet montra que le cadre

dans lequel on comprenait les substances capables d'agir comme antigènes était infiniment trop étroit et qu'il fallait reconnaître cette qualité antigénique à une foule de substances autres que les microbes, les toxines ou les venins, seules admises jusqu'alors. C'est ainsi qu'il établit, par exemple, pour n'envisager que notre point de vue particulier, le fait suivant, dont les conséquences devaient être capitales pour l'emploi systématique de la réaction de fixation de l'alexine comme méthode de diagnostic dans les maladies infectieuses :

Si l'on injecte, plusieurs jours de suite, à un animal donné, une certaine quantité de sang défibriné d'un animal d'espèce étrangère, au bout d'un certain temps le sérum du premier a acquis des propriétés antagonistes vis-à-vis des globules rouges du second, si bien que ceux-ci, mis *in vitro* en présence du sérum frais de l'animal injecté, sont totalement détruits par hémolyse, c'est-à-dire par rupture du stroma globulaire, libération de l'hémoglobine et dissolution de celle-ci dans le mélange qui prend alors une teinte laquée caractéristique.

Cette propriété hémolysante du sérum frais de l'animal injecté disparaît par vieillissement ou par chauffage à 55 degrés en trente minutes : elle peut lui être rendue par adjonction d'une quantité nouvelle de tout sérum normal frais quelconque ; et elle est en outre spécifique, telle que le sérum ainsi obtenu n'hémolyse que les globules rouges de l'espèce ayant servi aux injections, alors qu'il reste

sans effet sur les globules sanguins de toute autre provenance.

Nous retrouvons donc ainsi dans ce phénomène de l'hémolyse, la superposition exacte des conditions et des résultats du phénomène de la bactériolyse, et cette similitude exacte des deux, nous permet d'expliquer le premier par ce que nous savons déjà du second, en changeant simplement la nature de l'un des facteurs et le mode de contrôle de l'expérience, ce dernier présentant surtout de l'importance pour le sujet qui nous occupe.

En effet, le sang défibriné d'un animal d'une espèce déterminée, injecté dans l'organisme d'un animal d'espèce étrangère, se comporte, étant donnée l'allure des conditions de l'hémolyse exposée plus haut, comme un véritable antigène, au même titre que les microbes dans l'expérience envisagée à propos de la bactériolyse. Exactement comme eux, cet antigène détermine, au bout d'un temps variable, l'apparition, dans le sérum de l'animal injecté, d'une sensibilisatrice spécifique à son égard, et dont l'union avec lui entraîne la fixation, sur le complexe nouveau, de l'alexine naturelle de ce sérum, avec comme conséquence visible *in vitro*, l'hémolyse complète du mélange.

Mais ici, étant donnés les termes du problème, plus de restriction dans les conditions de l'expérience. Tandis que pour la bactériolyse, nous avons vu son emploi limité par les qualités mêmes de l'antigène, dans l'hémolyse au contraire, tous les glo-

butes sanguins quels qu'ils soient, sensibilisés par leur sérum hémolytique spécifique, se comportent de façon constamment identique et plus d'interprétation fine au microscope, puisque le phénomène est total et objectif ; on conçoit donc aisément quelle grande valeur pratique l'hémolyse spécifique a pu prendre dans son application à la recherche de la sensibilisatrice des immunsérums antimicrobiens. Pour la mettre en évidence de cette manière, rien, en effet, n'est désormais plus simple.

Mélangions ensemble du sérum frais d'un malade et de l'antigène, constitué par une émulsion du microbe que nous supposons être la cause de la maladie. Puis, au bout d'une demi-heure d'étuve, ajoutons à ce mélange, du sérum hémolytique chauffé, c'est-à-dire privé de son alexine, et des globules rouges vis-à-vis desquels il est spécifique : nous savons que dans ces conditions, l'hémolyse n'est possible que si ce sérum hémolytique récupère de l'alexine.

Si donc dans le premier temps, l'alexine du sérum frais du malade n'a pas été fixée grâce à l'union spécifique de la sensibilisatrice avec l'antigène, elle pourra se porter sur le système hémolytique qui en a besoin, il y aura hémolyse : la réaction sera négative.

Si au contraire l'alexine a été fixée, elle ne pourra plus se porter sur le système hémolytique : il n'y aura pas hémolyse : la réaction sera positive.

Ce principe alors définitivement établi, Bordet et

Gengou l'utilisèrent la première fois en 1901 pour déceler la sensibilisatrice spécifique dans le sérum d'animaux vaccinés contre différents germes : bacille de la peste (1), du rouget, du charbon, de la fièvre typhoïde, ou dans le sérum de typhiques convalescents. Puis Widal et Le Sourd, l'appliquèrent en clinique au diagnostic de la dothiéntérie et depuis cette époque, on ne compte pour ainsi dire plus les affections au diagnostic desquelles on a pu l'employer. C'est ainsi que nous citerons, parmi les plus connues : la dysenterie (Dopter), la fièvre de Malte (Ch. Nicolle et Sicre), la spirochétose ictéro-hémorragique (Martin et Pettit), l'échinococcose (Weinberg et Parvu), la morve (Schütz et Schubert), la coqueluche (Bordet et Gengou), la tuberculose (Calmette et Massol), etc... Une mention spéciale devant être réservée pour la syphilis, dans le diagnostic ou même le contrôle du traitement de laquelle, la réaction de fixation de l'alexine, d'abord appliquée par Wassermann, Neisser et Brück, se montre pleine d'enseignements malgré la non-spécificité complète de la réaction, et pourvu que sa technique soit parfaite et son interprétation intelligente.

Ici, nous touchons à l'un des points délicats du problème et la question posée prend une allure nouvelle. C'est qu'en effet, nous avons admis jusqu'à

1. Nous pensons pouvoir, dans des publications ultérieures, préciser à l'aide de cette méthode l'étude de la sensibilisatrice dans le sérum des animaux vaccinés contre le bacille de Yersin et apporter des renseignements nouveaux sur les conditions de sa production et de son évolution.

présent le principe de la spécificité absolue de l'anticorps vis-à-vis de l'antigène et l'exactitude réciproque de la proposition inverse. Or, s'il en était réellement ainsi, toute interprétation serait inutile, les faits ayant en eux-mêmes une force indiscutable les imposant à tous. Mais dans quelle branche de l'activité humaine trouvons-nous donc pareille qualité d'absolue certitude et n'est-ce point au contraire, jusqu'à présent, une des propriétés inhérentes à notre nature même, que ce caractère de relativité qui marque inéluctablement toutes les manifestations de notre esprit pour les entacher d'erreur souvent ou en affaiblir la portée toujours. Le cas particulier qui nous occupe ne pouvait donc pas échapper à cette loi générale. Et c'est ainsi qu'on a pu voir une réaction de fixation positive avec le même antigène dans des maladies voisines ou avec des antigènes voisins dans la même maladie (1), sans parler des erreurs d'interprétation dues à des phénomènes accessoires encore peu connus ou à des fautes de technique professionnelle. Faut-il, au hasard, citer des exemples de ces co-fixations ? Dans la spirochétose ictéro-hémorragique (Costa et Troisier), la réaction de Bordet-Gengou peut être positive à la fois avec un antigène syphilitique et un sérum spirochétosique, la réciproque étant également vraie ; dans la sporotrichose, mêmes carac-

1. Soit dit en passant, ce fait, quoique diminuant la valeur absolue de la méthode au point de vue du diagnostic même, fournit cependant des renseignements précieux sur la similitude de caractères de germes du même groupe, ou de réactions de maladies du même genre.

tères de la réaction avec l'actinomyces, l'endomyces, etc... Bien plus, et pour prendre l'exemple typique, dans la réaction de Wassermann, une foule de substances différentes peuvent être antigéniques sans même que nous sachions exactement pourquoi, pas plus que nous ne savons exactement à la suite de quelle identité de modifications organiques occultes, plusieurs maladies, aussi différentes que possible dans l'état actuel de nos connaissances, peuvent donner lieu au même résultat.

Est-ce donc qu'il faille dès lors abandonner toute illusion? Loin de nous cette idée. D'abord, au fur et à mesure que nos connaissances s'étendront, nous comprendrons mieux la cause de nos erreurs, et notre technique est perfectible. Et puis, d'ici là, n'imitons point ces contradicteurs invétérés ou ces négateurs systématiques du progrès, pas plus que ces esprits chagrins qui veulent toujours, sans se rendre compte de la puérile suffisance de leur esprit, plier les faits à des formules immuables ou définitives. Sachons interpréter la méthode en ne lui demandant que ce qu'elle peut nous donner; n'oublions pas que la médecine est un art aussi et que c'est pour cela que la précision scientifique de ses méthodes de jour en jour plus grande, sait aussi réclamer de celui qui la cultive un esprit critique de jour en jour plus souple et plus subtil. C'est à cette seule condition que la clinique et le laboratoire peuvent profiter ensemble de leurs progrès réciproques et pas plus qu'un diagnostic vraiment complet ne peut se faire aujour-

d'hui au seul lit du malade, pas davantage ne le fera-t-on seulement au fond d'un tube d'expérience.

Quoi qu'il en soit, de tout ce que nous savons maintenant, il nous semble désormais facile d'établir de façon précise les conditions idéales nécessaires à une réaction de fixation de l'alexine pour avoir dans la pratique, toute sa valeur.

Il faut avant tout, qu'elle soit nettement spécifique vis-à-vis de la maladie comme vis-à-vis de son germe, et qu'elle donne, dans ces conditions, des résultats toujours constants : positifs dans chaque cas déterminé, négatifs dans l'hypothèse contraire.

Il faut qu'elle apparaisse rapidement, de la rapidité du diagnostic auquel elle contribue, dépendant si souvent l'activité et le succès de la thérapeutique.

Il faut aussi qu'elle soit de durée suffisante, pouvant permettre ainsi un contrôle de l'affection non seulement en pleine période d'état, mais aussi pendant la convalescence ou même longtemps après, acquérant alors une importance capitale au point de vue épidémiologique et prophylactique.

Il faut enfin qu'elle soit d'application assez simple, ou tout au moins, qu'étant donné l'évidence des difficultés inhérentes à sa technique particulière, il n'existe pas, à côté d'elle dans la maladie envisagée, une autre méthode aussi certaine mais plus aisée.

Tel est, à notre avis, tout ce qu'il faut demander à une réaction de fixation vraiment valable : et si nous osons formuler des exigences aussi grandes, c'est qu'il est au moins un cas où nous les avons trou-

vées satisfaites, un cas où la réaction se montre spécifique, constante, précoce, persistante, supérieure et simple ; c'est dans l'application que nous en avons faite au diagnostic de la peste que nous allons maintenant exposer.

CHAPITRE III

LA RÉACTION DE FIXATION DE L'ALEXINE DANS LA PESTE

Etude des méthodes classiques de diagnostic de la peste. — Examen bactériologique. — Technique. — Recherche du coccobacille dans le pus du bubon ; hémoculture ; inoculations aux animaux. — Difficulté de son identification ; bacilles voisins. — Impossibilité de sa découverte dans le bubon suppuré, dans les formes bénignes, ambulatoires ou après guérison. — Méthodes sérologiques : bactériolyse du bacille pesteux par le sérum de malades ou de convalescents ; étude de l'index opsonique ; cuti et ophtalmo-réaction ; précipito-diagnostic ; agglutination. — Inconvénients respectifs de ces procédés pratiquement abandonnés.

Etude historique de la réaction de fixation dans la peste. — Son application à l'étude des sérums d'animaux vaccinés et au diagnostic de la maladie. — Médiocrité des résultats, négation des conclusions.

Etude technique détaillée de notre méthode.

Lorsqu'on étudie attentivement, dans l'immense bibliographie mondiale publiée sur la peste, les chapitres successifs consacrés à son diagnostic, on ne peut qu'être frappé de voir, dans une affection souvent aussi polymorphe au point de vue symptomatique et dans laquelle la précocité d'un diagnostic de certitude présente à tous points de vue une telle importance, combien, à cet égard, primitives sont restées nos méthodes et relatifs nos progrès.

Depuis la célèbre découverte du cocco-bacille spécifique, faite par Yersin à Hong-Kong en 1894, seule jusqu'à présent la mise en évidence du germe causal dans l'organisme suspect, permet la légitimité d'une affirmation indiscutable. Or, même dans les cas où elle est possible (et nous verrons plus loin en détail tous ceux où elle ne l'est pas), les difficultés inhérentes à sa technique diminuent singulièrement l'intérêt de ses réponses. Qu'il nous soit permis, malgré son origine, de citer à ce sujet un passage de l'article de A. Dieudonné de Munich et R. Otto de Hanovre dans le *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen* publié sous la direction de W. Kolle et A. von Wassermann (Iéna, 1912) :

« Le diagnostic de la peste, par la seule évolution clinique de la maladie, n'est possible qu'au cours d'une épidémie confirmée : en dehors de celle-ci, il doit toujours s'appuyer sur les méthodes bactériologiques et celles-ci sont particulièrement indispensables lors de l'éclosion des premiers cas : la pneumonie pesteuse même, ne pouvant être reconnue qu'uniquement grâce à elles, et comme ces recherches bactériologiques sont souvent difficiles, elles nécessitent toujours un expérimentateur éprouvé. » Puis, après l'exposé de la marche à suivre, les auteurs ajoutent : « Comme nous venons de le voir, le bacille de la peste présente une série de caractères morphologiques et cultureux particuliers, tels que coloration bipolaire, décoloration par la méthode de Gram, polymorphisme dans les frottis et aspect spé-

cial des cultures sur gélose, gélatine, sérum et bouillon. C'est par la reconnaissance de l'ensemble de ces caractères personnels, corroborée dans certains cas par les renseignements que fournissent les inoculations à l'animal, que le diagnostic sera possible. » Mais en terminant, et après exposé des discussions auxquelles donne lieu l'établissement des caractères du bacille sur les différents milieux et leur différenciation de ceux des bacilles analogues, Dieu-donné et Otto concluent en insistant encore sur la difficulté très grande qu'on éprouve dans certains cas pour son identification précise et déplorent qu'une méthode spéciale s'appliquant à son cas particulier, ne se soit pas encore imposée à nous.

Jusqu'à présent, le diagnostic bactériologique de la peste par la mise en évidence du cocco-bacille de Yersin se fait de la façon suivante, excellemment précisée par Dujardin-Beaumetz.

I. — CHEZ LE MALADE

a) *Dans la peste bubonique*

Ponction du ganglion. Recueillir au moyen d'une seringue quelques gouttes de sérosité qui serviront simultanément aux recherches suivantes :

1^o Examen direct : étalement d'un peu de sérosité sur 2 lames. L'une sera utilisée pour faire un Gram-fuchsine (le bacille pesteux ne prend pas le Gram). L'autre sera colorée à la thionine phéniquée qui met

bien en évidence la coloration bipolaire du *B. pestueux* ;

2° Culture : ensemencement sur gélose inclinée. Mettre à l'étuve. Température optima entre 25 et 35 degrés. Développement lent, à peine perceptibles après vingt-quatre heures, les colonies ne sont bien visibles que le surlendemain. Donc toute grosse colonie apparaissant dans les premières vingt-quatre heures n'est certainement pas une colonie pesteuse. Le repiquage en bouillon donnera un aspect caractéristique (flocons constitués par des streptobacilles immobiles) ;

3° Inoculation : à la souris blanche. Injection à la patte d'un peu de sérosité diluée dans quelques gouttes de bouillon. La mort survient en deux ou quatre jours. Gros ganglions de la région inoculée. Rate volumineuse. Dans les frottis de ces organes, on constatera une grande quantité de *cocco-bacilles* à coloration bipolaire. Le sang du cœur donnera sur gélose une culture positive.

b) *Dans la pneumonie pesteuse*

1° Examen direct des crachats sur lame. Importance de la méthode de Gram pour différencier le pneumocoque du *B. de Yersin* ;

2° Ensemencement : pour éviter le développement possible du pneumocoque, placer les cultures à une température inférieure à 20 degrés, favorable au contraire à la croissance du *B. pestueux* ;

3° Inoculation : au cobaye ou au rat, jamais à la souris qui est plus sensible au pneumocoque qu'au B. pesteux ;

Dans les formes graves de la peste bubonique aussi bien que dans la peste pulmonaire, on pourra pratiquer une hémoculture en ensemençant dans du bouillon 20 à 30 centimètres cubes de sang : elle est souvent positive.

II. — SUR LE CADAVRE

Prélèvement du ganglion et de la rate, dont les frottis révéleront l'existence de nombreux cocco-bacilles typiques. Quelquefois formes globuleuses d'involution.

Ensemencement sur gélose et inoculation aux animaux. Si le cadavre est putréfié, il est encore possible d'isoler le B. de Yersin en frottant de la pulpe de rate sur la peau fraîchement rasée d'un cobaye ou d'un rat. Ce mode d'infection évite les septicémies que provoqueraient les microbes de la putréfaction.

Mais quel que soit l'intérêt primordial et indiscutable de cette recherche, il est des circonstances où celle-ci peut se heurter à des obstacles insurmontables et dus soit aux difficultés de l'identification bactériologique soit même, ce qui est infiniment plus grave, à l'impossibilité absolue de la découverte du germe, étant donnés les caractères ana-

tomo-pathologiques, cliniques ou évolutifs de la maladie elle-même.

C'est ainsi qu'au point de vue bactériologique, sans parler du cas où la coloration bipolaire manque au bacille de Yersin lui-même (Friedrichsen) et où au contraire un microbe courant tel que le bacille d'Eberth prend par acidification une coloration bipolaire typique (Gotschlich), il existe un nombre assez considérable d'organismes pathogènes pour les animaux de laboratoire sensibles à la peste, et dont les caractères, très voisins de ceux du bacille pesteux, rendent souvent problématiques les résultats des autopsies. C'est ainsi que nous signalerons des bacilles :

1° Du soi-disant groupe de Gærtner, signalés par Danysz, Issatschenko, Neumann, Trautmann, Klein, Skschivan ;

2° Du groupe des septicémies hémorragiques de Koch-Gaffky, rentrant suivant la classification de Lignières, dans le sous-groupe des Pasteurelloses, type choléra des poules, signalés par Kossel et Overbeck ;

3° Du groupe des bacilles encapsulés, type Friedlander, bacillus lactis aerogènes, bacilles du rhinocclérome, signalés par Schmitter, Cimminos, Aujesky, Toyama, Schilling, Milan Sachs, Xylander.

4° Du groupe des bacilles de la pseudotuberculose des rongeurs enfin, signalés par Pfeiffer, Kutscher, Preicz, Zlatogoroff, et nous citerons en terminant cette énumération, cette phrase de Macé, in *Traité pratique de Bactériologie* : « Les caractères morphologiques du bacille pesteux sont en somme peu spéciaux et ne

peuvent guère permettre de faire un diagnostic assuré » à laquelle nous ajouterons ce correctif : à moins de s'entourer de toutes les autres garanties nécessaires.

Quoi qu'il en soit, les difficultés d'identification seraient pourtant relativement simples à surmonter, si le bacille de Yersin était présent dans l'organisme à tous les stades et dans toutes les formes de la maladie : mais il n'en est malheureusement pas ainsi bien souvent.

Dans la forme bubonique moyenne, où les circonstances sont les plus favorables, il peut se rencontrer, nous le savons, dans le bubon et dans le sang (sans parler des phlyctènes, bulles et charbons cutanés quand ils existent (1). Mais même dans ce cas il ne se trouve dans le bubon qu'à la période de crudité de celui-ci, disparaissant rapidement avec l'apparition de la suppuration. Quant à sa recherche dans le sang, elle est plus inconstante encore : exceptionnellement positive par examen direct, elle l'est plus souvent par l'hémoculture, pourvu que celle-ci soit faite en quantités suffisantes : encore dans ces conditions, faut-il avoir à faire à une forme grave et à une période avancée de la maladie. Notons pourtant que Gastinel et Reilly ont montré récemment que cette bacillémie est plus souvent décelable qu'on ne le pensait, aussi bien à un stade précoce qu'au cours d'une atteinte légère de l'affection. Que dire alors des formes bénignes ou ambulatoires où la découverte du bacille est

1. On l'a encore signalé très rarement dans les urines et les fèces.

exceptionnelle ; que dire surtout du diagnostic rétrospectif chez les individus convalescents ou guéris, qui par cette méthode est, lui, complètement impossible.

En présence de pareils résultats et devant l'importance du sujet, il était logique de tenter de lui appliquer les méthodes nouvelles employées en sérologie et de le faire bénéficier des progrès obtenus grâce à elles. C'est ainsi que :

Row (*Brit. Med. Journ.*, 1902) a étudié la bactériolyse du bacille pesteux par le sérum de malades ou de convalescents, à la suite de l'observation générale faite par lui, de l'action lytique exercée sur le *Bacillus pestis* par le sérum de pestiférés à un stade précoce de la maladie ou pendant la convalescence. Examinant en goutte pendante après vingt-quatre heures, suivant une technique exposée dans l'ouvrage cité, il arrive aux conclusions suivantes : 1° le sérum de pestiférés convalescents possède une remarquable action bactériolytique vis-à-vis du bacille pesteux, qui s'est maintenue au delà de six semaines et même dans deux cas, au delà de dix-huit mois ; 2° mêmes caractères de ce sérum dès le début de la maladie mais d'intensité notablement moindre ; 3° le sérum d'individus normaux ne présente pas cette propriété. Cette façon de voir fut combattue par Markl, Kolle et Hetsch, Skschivan, Wright et Windsor, Lamb et Foster et Strong.

Weinstein en 1909, a poursuivi plus spécialement l'étude des opsonines dans le cas particulier, et a pu en déceler une dans le sérum normal. Il a

établi, entre autres choses, que l'index opsonique baisse rapidement et précocement dans le sérum des pestiférés, et que ce phénomène est bien antérieur aux résultats des cultures ou de l'agglutination. Après injection de sérum, l'index remonte rapidement mais il reste plus élevé après guérison ou immunisation active qu'après immunisation passive ; un chauffage à 60 degrés faisant baisser très modérément l'index opsonique chez le malade alors qu'il abaisse à rien celui de l'individu normal.

Or, le moindre des reproches qu'on puisse faire à cette technique est certainement la délicatesse extrême des opérations qu'elle nécessite, sans discuter même les résultats différents et les conclusions contradictoires auxquelles d'autres auteurs sont arrivés.

Tamie Amako (*Centralbl. für. Bakt.*, 1909) a expérimenté la cuti et l'ophtalmo-réaction chez les pestiférés. Il part d'une vieille culture en bouillon de deux semaines, traitée par un excès d'alcool absolu, filtrée, ce qui reste sur le filtre étant desséché dans le vide puis soigneusement pulvérisé. Dilution au 1/100 de cette poudre dans l'eau physiologique, filtration et stérilisation. Une goutte sur la face interne de la paupière inférieure ou sur la peau du bras après scarification : lecture du résultat au bout de six, douze, vingt-quatre heures. Chez les malades positifs il y a eu à peu près 40-50 o/o de réponses positives : chez 10 convalescents il a eu deux réactions très fortes, et pour le reste tantôt faibles tantôt négatives. L'auteur conclut lui-même à l'absence d'intérêt pratique de ses recherches.

Kolle et Martini ont tenté avec succès de déceler dans le sérum des pestiférés la présence d'une précipitine. Mais pour ces auteurs, bien qu'elle soit spécifique, le précipito-diagnostic est bien loin de valoir, en précision et en sûreté, l'agglutination : notons pourtant que Zlatogoroff aboutit à des conclusions exactement inverses, et lui reconnaît, au contraire, une signification particulière.

Nous avons nous-mêmes avec M. Nicolle et Joltrain étudié la précipitation : c'est une méthode qui paraît donner de bons résultats, mais qui est délicate à appliquer, étant donnée la difficulté d'obtenir des sérums clairs, et surtout la nécessité de ne jamais l'employer chez les individus sérothérisés, ce qui diminue beaucoup sa valeur pratique.

Il n'est pas enfin jusqu'à l'agglutination qui n'ait donné lieu en cette matière à des résultats absolument contradictoires pour être complètement abandonnée.

D'abord étudiée par Wissokowitz et Zabolotny, puis par la Commission allemande, il fut bientôt démontré qu'elle était loin d'avoir dans la peste, l'intérêt qu'elle présente dans la typhoïde. Les objections générales qu'on peut lui faire sont en effet les suivantes : d'abord elle est tardive, n'apparaissant en moyenne que dans la deuxième semaine : elle n'est, comme l'ont établi Vagedes à Porto, et Uriarte au Paraguay, en aucune façon constante : sa présence peut donc avoir une valeur, mais son absence n'en a aucune. Enfin, même dans les cas positifs, son taux

dépasse rarement le vingtième ou trentième exceptionnellement le cinquantième et ceci prend une spéciale importance quand on connaît la facilité d'agglutination spontanée du bacille pesteux, qu'on emploie des émulsions de cultures obtenues par les procédés habituels ou par des techniques améliorées, et que penser alors même dans ces conditions, de ces auteurs qui, comme Shibayama, jugent les résultats après un séjour de vingt-quatre heures à l'étuve! On comprend ainsi les conclusions de Schtschastny dans le rapport russe de 1911 sur la peste à Odessa, qui ne reconnaît à l'agglutination qu'une valeur toute relative, ou mieux encore celles de la Commission anglaise des Indes qui la déclare totalement dénuée d'intérêt (1).

Nous voyons donc ainsi que, jusqu'à présent, toutes les méthodes de diagnostic de la peste basées sur la recherche des anticorps spécifiques dans les immunsérums, sont loin de montrer, dans la pratique, les qualités habituelles qu'il est convenu de leur attribuer dans un grand nombre d'autres maladies infectieuses. En est-il de même de celle qui est basée sur la recherche de la fixation de l'alexine, c'est ce que nous allons maintenant considérer.

A vrai dire s'il fallait, avant toute expérimentation personnelle, se faire une idée préconçue de la question, par la lecture des travaux parus à ce sujet,

1. Ajoutons que l'agglutination nécessite poursa technique, l'emploi de cultures fraîches et vivantes, ce qui comporte un danger qui peut n'être pas à dédaigner sinon pour l'expérimentateur très éprouvé, tout au moins pour son entourage, dans l'intérieur même du laboratoire.

aucun espoir bien certainement, ne serait alors permis. C'est qu'il est en effet, vraiment étonnant, étant donné la profusion d'ouvrages publiés sur la peste d'une part et sur la réaction de Bordet-Gengou d'autre part et la multiplicité des affections dans lesquelles on a essayé cette dernière, de voir quelle mince bibliographie existe sur le rapprochement des deux sujets sans même parler dans ce cas de l'in vraisemblance des résultats auxquels on est arrivé avant nous.

Il faut d'ailleurs nettement séparer à ce propos les expérimentations faites sur les qualités du sérum antipesteux ou les propriétés du sérum des animaux vaccinés, de celles qui ont spécialement trait au diagnostic clinique de la maladie. Voici l'état de la question, après enquête aussi complète que possible dans toutes les littératures française et étrangères, et dans l'ordre chronologique des faits.

En 1901, Bordet montre (*Ann. de l'Institut Pasteur*) qu'il est possible, par la réaction de fixation de l'alexine de déceler la présence d'une sensibilisatrice spécifique dans le sérum des chevaux vaccinés contre la peste (sérum antipesteux de l'Institut Pasteur) (1).

Six ans après, en 1907, Strong (*The Philippine Journal of Science*, juin) écrit : « La façon la plus satisfaisante de mettre en lumière la réaction d'immunité dans le sang des individus vaccinés nous a été fournie par le phénomène de la fixation du complément de Bordet et Gengou. »

1. Des communications ultérieures préciseront nos études sur ce point particulier.

En 1908, le Dr. Guiseppe Fornario, de l'Institut Pasteur de Lille (*C. R. Soc. de Biol.*, tome 64), indique qu'il s'est servi de cette réaction pour mettre en évidence les anticorps du sérum des animaux vaccinés contre la peste par voie buccale ou rectale.

En 1910, N. J. Damperoff, du laboratoire de la peste à l'Institut impérial de médecine expérimentale du fort Alexandre I^{er} à Cronstadt, publie (*Centralbl für Bakt.*, n° 55) ses résultats sur la réaction de fixation dans les sérums antipesteux. L'auteur a voulu rechercher s'il existait un parallélisme entre la teneur en anticorps et la valeur thérapeutique d'un sérum antipesteux (suivant l'opinion de Kolle et Wassermann ; Krumbein, Diehl et Schatilloff, Brück et Stern, Bauer). Comme Amako il est arrivé à des conclusions négatives.

En 1911, Armand Delille, dans son ouvrage, *Techniques de diagnostic par les méthodes de déviation du complément*, signale son action dans la mise en évidence de la sensibilisatrice du sérum antipesteux.

La même année V. Grysez et P. Wagon, de l'Institut Pasteur de Lille, à la suite d'un travail inspiré par Calmette, communiquent à la Société de Biologie (*C. Rend. de la Soc. Biol.*, 1911, t. 50, p. 647) les résultats positifs obtenus par eux dans le diagnostic rétrospectif de la peste effectué sur les organes putréfiés de rats par la méthode de déviation du complément.

Et avec eux se termine la liste des cinq expérimentateurs qui, en vingt ans, ont travaillé la question au

point de vue des vaccinations animales. Ceux qui l'ont étudiée au point de vue clinique sont encore plus rares :

En 1909, huit ans après la découverte de Bordet et Gengou, Tamie Amako, directeur de l'hôpital d'Etat des maladies infectieuses à Kobé publie (*Centrabl. für Bakt.*, n° 51, p. 674) un article intitulé : *Comparaison de l'ophtalmo et de la cuti-réaction dans la peste avec l'agglutination et la fixation du complément dans le sérum des malades*. Comme antigène pesteux, il emploie le liquide légèrement trouble obtenu par centrifugation d'une émulsion de dix anses d'une culture de peste dans 5 centimètres cubes d'eau physiologique, chauffée deux heures à 60 degrés et laissée vingt-quatre heures à la température du laboratoire. Nous avons déjà vu son opinion sur l'ophtalmo et la cuti-réaction étudiées au cours de la maladie en période de fièvre. Les deux autres méthodes n'ont été expérimentées que chez des convalescents : sur 10 de ceux-ci il obtient neuf fois l'agglutination et dix fois la fixation de l'alexine positive.

Pourtant il indique qu'il n'y a pas de rapport précis entre l'intensité des deux méthodes et ses recherches ne sont plus poursuivies.

En 1909 également, les mémoires de l'Institut O. Cruz de Manguinhos contiennent un article du Dr Arthur Moses intitulé : *De la mise en évidence d'antigène et d'anticorps par la fixation du complément*. Moses rapporte que : dans une série de 38 cas de peste cliniquement sûrs (dont 32 avec constatation

bactériologique) il a reconnu deux fois la présence d'antigène, vingt-cinq fois la présence d'anticorps, onze fois un résultat négatif. Les deux sérums antigéniques étaient des cas de septicémie pesteuse. Dans la majorité des observations, la prise de sang fut faite au cinquième jour ; dans d'autres du septième au neuvième ; 4 cas furent positifs au troisième. Et pourtant l'auteur conclut « qu'il ne se fait aucune illusion sur la portée pratique de ces constatations, qui par la difficulté de leur technique, ne leur permettent pas de remplacer l'examen bactériologique ou l'agglutination » (!)

En 1911, dans le rapport russe sur la peste à Odessa, se trouve un intéressant article de Schtschastny, de la Société de Pathologie et de la station bactériologique de cette ville. L'expérimentation porte sur un nombre de cas choisis spécialement, et paraît avoir été suffisamment détaillée pour l'époque ; et pourtant, là encore, quels médiocres résultats et quelles tristes conclusions !

Le travail est institué : *De l'agglutination et de la réaction de Bordet-Gengou dans la peste bubonique*. Il porte sur une statistique de 30 sérums de malades bactériologiquement positifs ; 2 sérums de malades suspects (examen bactériologique ultérieur négatif) ; 3 sérums d'infirmiers vaccinés en trois fois. Les dates d'examen sont les suivantes : pour 5 malades : sixième, neuvième, dixième, seizième, vingtième, jour. Pour les autres : pendant la convalescence, c'est-à-dire après disparition complète de la fièvre et

des symptômes cliniques. L'époque la plus reculée est le quatre-vingt onzième jour. Pour l'auteur, la question primordiale dans la réaction, est la nature de l'antigène ; il en a employé 5 différents.

Antigène n° 1 (Amako) : 10 anses de culture sur gélose de vingt-quatre heures dans 5 centimètres cubes d'eau physiologique. Emulsion chauffée à 60 degrés pendant deux heures. Agitation pendant vingt-quatre heures. Centrifugation.

Antigène n° 2 : même technique avec des cultures de cinq à huit jours à la glacière.

Antigène n° 3 : même technique avec des cultures de deux semaines à la glacière ;

Antigène n° 4, (Horiouchi) : culture complète de deux jours à trente-sept dans 5 centimètres cubes d'eau physiologique : émulsion épaisse, chauffée à 60 degrés pendant une heure. Agitation pendant vingt-quatre heures. Centrifugation.

Antigène n° 5 : même technique avec culture de trois jours à la glacière.

Les antigènes les plus sensibles pour Schtschas-tny, seraient les n° 4 et 5 : il a également utilisé les bacilles vivants, comme Damperoff, mais la méthode n'a rien de supérieur. Au point de vue technique, on peut agir sur le sérum frais ou le sérum chauffé : la première méthode serait plus sensible.

Résultats : sur 30 sérums sûrs :

16 fortement positifs par les 2 méthodes	}	Total : 25 positifs.
8 positifs pour le sérum frais seulement		
1 positif pour le sérum chauffé seul.		
		5 négatifs.

2 sérums douteux (cas négatifs bactériologiquement). 2 négatifs.
3 sérums de vaccinés : 1 faiblement positif avec le sérum
frais seulement. 2 négatifs.

Comme opération de contrôle, huit des cas positifs avec l'antigène pesteux ont été examinés en outre avec un antigène constitué par une émulsion de bacilles de la pseudo-tuberculose des rongeurs, provenant de trois souches différentes n^{os} 1, 2 et 3 (cette dernière provenant de l'Institut Pasteur de Paris).

Résultats : 5 cas positifs sur 8 avec la souche 1

—	3	—	—	2
—	2	—	—	3

Or, malgré l'intérêt évident que présentent ces statistiques surtout étant donnée l'époque de leur publication, l'auteur n'hésite pas à conclure que la valeur des deux méthodes est toute relative, que ce sont de simples auxiliaires du diagnostic, que les cas les plus graves paraissent donner les réactions les plus nettes, et qu'en tout état de cause elles ne peuvent être employées avant la deuxième semaine de la maladie.

Ces conclusions d'ailleurs, ne lui restèrent pas strictement personnelles, mais trouvèrent une publicité plus grande encore dans les rapports parus à la suite du Congrès international de la Peste tenu à Moukden en 1911, où l'on déclara « qu'aucune signification ne doit être donnée à la réaction de fixa-

tion du complément. » Ajoutons que depuis cette époque et malgré les progrès réalisés en biologie, les grands traités de pathologie ou de technique sérologique, Kolle-Wassermann, *op. cit.*, Kraus et Levaditi, *Handbuch der technik und methodik der Immunitätsforschung*, Castellani and Chalmers *Manual of Tropical Medicine*, Armand-Delille, *op. cit.*, Simond, article *Peste*, dans le *Traité pratique de Pathologie exotique*, Rubinstein, *Traité pratique de Sérologie et de séro-diagnostic* sont également muets à cet égard. Et c'est alors seulement, au milieu de la méconnaissance générale de la question, que le 17 août 1920, Joltrain faisait à l'Académie des Sciences, sa communication sur les premiers résultats obtenus, dans le diagnostic des cas de peste parisienne, par l'emploi de la réaction de fixation de l'alexine grâce à une technique sans cesse perfectionnée depuis et dont la formule définitive est celle que nous allons maintenant détailler.

Etude technique détaillée de notre méthode

Antigène. — Nous en avons successivement essayé de plusieurs sortes :

D'abord une émulsion dans l'eau physiologique de bacilles de Yersin vivants, suivant la méthode de Damperoff. Les résultats furent excellents, mais non pas supérieurs à ceux que nous pûmes obtenir d'autre façon et le danger d'une pareille manipulation, qui restreint notablement l'intérêt pratique de la

technique, nous la fit abandonner, aussi bien qu'un deuxième antigène constitué par une émulsion de bacille à virulence atténuée par l'âge comme c'était le cas pour une de nos souches qui ne tue la souris qu'à de très fortes doses incapables elle-mêmes de tuer le rat.

D'autres antigènes employant des bacilles tués par divers antiseptiques, comme dans certains vaccins, donnèrent de mauvais résultats, les antiseptiques présentant toujours, même en quantité minime, des propriétés hémolytiques, qui enlevaient toute valeur aux indications de notre système témoin.

De même, un extrait alcoolique de bacilles préparé par M. Calmette, ou une culture de peste traitée par le sulfate de soude anhydre par M. M. Nicolle, ne montrèrent que des qualités relatives dans la pratique.

A la suite de ces expériences, nous nous arrêtâmes à la formule suivante, qui nous a donné toujours satisfaction complète :

On ensemence en boîte de Roux, sur gélose, une trace d'une de nos souches servant à la préparation habituelle de notre vaccin. Après un séjour de quatre jours à l'étuve à 35, on récolte par râclage direct, on chauffe au bain-marie pendant une heure à 60 degrés et l'on répartit aseptiquement en ampoules, scellées pour conservation à la glacière ou simplement au frais, à l'abri de la lumière.

C'est cette émulsion épaisse, qui, titrée soigneuse-

ment comme nous le verrons plus loin, servira d'antigène pour les recherches à effectuer.

Divers faits sont à préciser, aucun détail n'étant négligeable dans des questions où la part de la technique est souvent aussi importante.

Composition de la gélose d'ensemencement. — Celle-ci varie, en effet, suivant le microbe à cultiver et les résultats de la pratique personnelle. Au laboratoire de la peste, les cultures les plus riches sont fournies sur une gélose de formule constamment fixe et qui est la suivante :

Bouillon Martin.....	Q. S.
Gélose.....	} 15 0/00
Gélatine.....	

(la proportion de gélatine peut varier avec la saison : jamais inférieure à 15 0/00 en été, elle peut atteindre 30 0/00 en hiver).

Virulence des souches d'origine. — Nous avons vu que les cultures qui servent à la préparation de notre antigène sont exactement les mêmes que celles qui servent à la fabrication du vaccin antipesteux. Or, contrairement à ce que l'on pourrait imaginer *à priori*, leur virulence n'est pas exaltée, à périodes fixes, par passage aux animaux pour obvier à leur atténuation par vieillissement. L'expérience a, en effet, montré qu'une pareille manière de faire n'exalte la virulence que vis-à-vis de l'animal qui sert au passage, ce qui, dans le cas particulier du cheval qui nous occupe, présenterait, outre des frais considérables, une technique des plus difficiles.

Beaucoup plus simplement alors, nos souches, dont la conservation d'ailleurs est fort longue, sont renouvelées par des échantillons frais venant de l'homme, et dans des cas de gravité spécialement choisie.

C'est ainsi d'ailleurs, qu'avec des souches de pays différents, notre antigène s'est montré remarquablement constant dans ses résultats.

Condition de la culture. — Une des caractéristiques des cultures obtenues de la façon indiquée, est leur aspect mucilagineux et leur consistance visqueuse. Ce fait, qui a les plus grands inconvénients au point de vue de l'agglutination en rendant celle-ci toujours spontanément possible, n'a aucune importance pour la réaction de fixation et ne légitime en aucune façon l'emploi de méthodes spéciales destinées à l'éviter. Bien plus, c'est en étudiant celles-ci, que nous avons pu nous rendre compte d'un certain nombre des raisons qui avaient amené jusqu'ici, l'échec de la méthode dans le diagnostic de la peste. En employant les cultures en glacière, les résultats ne sont, en effet, pas meilleurs, et la basse température retarde au contraire très notablement le développement et la luxuriance du bacille : celui-ci n'apparaît, en très mince pellicule qu'au bout de trois ou quatre jours. Que penser alors de l'antigène n° 4, mentionné dans le rapport russe, et utilisé dans ces conditions, en signalant de plus, la centrifugation de l'émulsion au bout de vingt-quatre heures qui est employée seule comme réactif, et comment s'étonner des piètres résultats obtenus par l'expérimenta-

teur, puisque, même après contact de deux mois, le liquide de la culture abondante que l'on obtient par notre méthode, ne s'est jamais révélé à nous comme doué de propriétés antigéniques.

Age de l'antigène. — Quelle que soit la période de temps écoulé entre la préparation de l'antigène et son emploi, il nous a toujours présenté une remarquable constance dans ses effets, et ceci est loin d'être sans valeur pour son utilisation pratique, de même qu'au point de vue biologique général il est intéressant de voir que la transformation et la désintégration des albumines qui le constituent ne sont pas capables de modifier son action vis-à-vis des anticorps spécifiques. C'est ainsi, qu'en présence des mêmes sérums traités par des antigènes de deux jours, des témoins faits avec des antigènes d'un mois, de deux mois ou même de trois mois, ont donné le même résultat, que ceux-ci aient été conservés dans un tiroir ou à la glacière, à l'obscurité ou à la lumière. Donc, conservation parfaite et, par suite, possibilité d'expédition lointaine et manipulation aisée, sans même parler de la facilité remarquable de préparation, ce qui n'est certes pas à dédaigner, étant donnée la complexité extraordinaire de cette seule question, dans l'application de l'épreuve de Bordet-Gengou, au diagnostic des autres maladies infectieuses.

Sérum à examiner. Alexine. — Le sang du malade suspect est recueilli, comme d'habitude, par ponction veineuse à l'aide d'une aiguille montée sur

une seringue de 20 centimètres cubes, l'ensemble, tout préparé, étant au préalable stérilisé à l'autoclave. Nous proscrivons complètement en effet la pose de ventouses scarifiées, infiniment plus désagréable pour le patient, malpropre et malcommode pour le médecin, la réservant aux seuls cas exceptionnels où la ponction veineuse présente des difficultés insurmontables. La quantité de sang nécessaire et suffisante est de 15 à 20 centimètres cubes que l'on verse à l'aide de la seringue, dans un tube à essai autoclavé, porté ensuite une heure à l'étuve, puis laissé à la température du laboratoire jusqu'à formation du caillot et transsudation du sérum : dans les cas d'urgence, une centrifugation de quelques minutes, donne le même résultat presque immédiatement. Le sérum obtenu est divisé en deux moitiés : l'une sert à l'examen à l'état frais (1), l'autre, chauffée pendant une heure à 55 degrés, est employée à l'examen du sérum chauffé, qui constitue toujours pour nous un premier témoin de contrôle. L'alexine dont nous nous servons alors, est une alexine ou un mélange d'alexines de cobaye, obtenues par ponction aseptique du cœur puis centrifugation, le sérum ainsi recueilli étant dilué au quart et dosé comme nous le verrons. En général nous recueillons l'alexine la veille pour le lendemain, ou même le matin pour l'après-midi et elle est conservée pendant ce temps,

1. Un sérum peut être examiné à l'état frais, lorsque la prise de sang ne remonte pas à plus de quarante-huit heures.

à l'abri de la lumière, à la température du laboratoire.

Système hémolytique. — Nous avons toujours employé le système hémolytique anti-humain, non pas tellement par crainte d'erreur possible avec un autre système (hémolyse des globules de mouton ou de lapin par le sérum humain) mais pour la simplification des manœuvres. C'est ainsi que, sans préparer nous-même notre lapin anti-humain, (ce qui complique singulièrement les manipulations et entraîne pas mal de déboires) nous usons d'un sérum hémolytique que l'on trouve tout dosé dans le commerce, mais que nous dosons pourtant chaque fois à chaque réaction, et qui nous a toujours donné satisfaction. Ce sérum est dilué et titré de façon que : à la dose de 0 cmc. 1 il hémolyse 0 cmc. 1 de globules humains dilués au quart en partant du culot de centrifugation en présence de 0 cmc. 1 de sérum frais de cobaye dilué à 40 0/0 et de 1 cmc. 7 d'eau physiologique en trente minutes à 37 degrés.

Les globules rouges sont des globules humains obtenus par expression du caillot sanguin et lavage répété et soigneux dans l'eau physiologique jusqu'à obtention, après centrifugation, d'un liquide parfaitement clair. Le culot de centrifugation est alors étendu de sept fois son volume d'eau physiologique, celle-ci étant employée pour toutes nos opérations au taux uniforme de 9 0/00.

Dispositif de la recherche

A. — EPREUVES PRÉLIMINAIRES

Dosage de l'antigène

En partant de l'épaisse émulsion préparée comme nous l'avons vu, on fait une série de dilutions progressivement croissantes, en général du $1/30$ au $1/100$, soit 8 tubes. De chaque tube, on prend III gouttes que l'on mélange avec les quantités d'alexine et de sérum hémolytique indiquées par dosage, on complète à XVIII gouttes d'eau physiologique et on ajoute II gouttes de globule rouges au $1/8$. On porte à l'étuve pendant une demi-heure et on lit les résultats en prenant pour les opérations ultérieures la dilution la plus élevée d'antigène parmi celles où il y a hémolyse complète.

Signalons qu'il peut y avoir des cas où l'appréciation exacte de cette limite peut être difficile étant donné un degré quelconque d'hémolyse plus ou moins complète dans un certain nombre de tubes consécutifs ; il n'y a alors aucun inconvénient à choisir la dilution où l'hémolyse est franche et totale.

Ce dosage de l'antigène se fait d'ailleurs assez rarement, un tube d'antigène souche sert en effet pour un nombre relativement important d'examen, étant donné la dilution élevée qu'on en fait (1 p. 70 généralement) et la fixité assez grande qu'il présente. Dans ces conditions, notre expérience nous permet

de dire qu'un dosage tous les mois est largement suffisant dans la pratique.

Ajoutons encore qu'il y a intérêt à employer notre méthode de culture, sur laquelle nous avons insisté plus haut, celle-ci procurant un antigène de force marquée, par conséquent utilisable à des dilutions élevées et partant d'émulsion légère, ce qui n'est pas négligeable pour l'appréciation, par un œil non exercé spécialement, du degré exact de l'hémolyse.

Dosage de l'alexine et du sérum hémolytique

Que l'alexine provienne directement du sérum frais du malade, ou qu'elle provienne du cobaye, la technique est la même, avec pourtant cette légère différence que dans le premier cas on opère avec le sérum pur tandis que dans le deuxième le sérum du cobaye est étendu au $1/4$ d'eau physiologique. On fait six tubes dans lesquels on met des doses croissantes d'alexine, respectivement I goutte, II, II, II, II, et IV gouttes, et l'on complète d'eau physiologique pour un total de X gouttes ; on porte à l'étuve une demi-heure ; on ajoute ensuite du sérum hémolytique, I, I, II, III, IV, et IV gouttes, des globules rouges en suspension au $1/8$ II gouttes dans chaque tube et on complète encore à X, pour la deuxième opération, à l'aide d'eau physiologique ; on porte de nouveau à l'étuve et après une nouvelle demi-heure, on lit le résultat choisissant comme proportion d'alexine et de sérum

hémolytique, celle qui est donnée par le tube où elle est la plus faible et qui présente une hémolyse complète.

Nous devons signaler à ce propos un petit point de détail qui peut avoir son importance. Très rarement (dans 2 ou 3 o/o des cas environ), nous avons vu la dose d'alexine et de sérum hémolytique qui donnait l'hémolyse complète dans l'épreuve préliminaire, ne déterminer qu'une hémolyse incomplète dans l'épreuve définitive, alors qu'il ne pouvait certainement pas s'agir d'un sérum pesteux, comme des recherches connexes nous permettaient de l'établir. Si l'on employait au contraire, dans cette épreuve définitive une dose d'alexine et d'alexine seulement, supérieure à celle fournie par le dosage, l'hémolyse totale se produisait. On a signalé ce fait dans d'autres réactions de fixation et l'on a pensé qu'il était dû à la baisse du pouvoir alexique pendant le temps nécessaire à la réaction (une ou deux heures suivant les cas). Nous ne partageons pas cette façon de voir, car s'il en était ainsi, c'est dans tous les cas que le phénomène devrait se produire : or nous avons dit qu'il était très rare. Nous pensons plutôt, qu'exceptionnellement, vis-à-vis d'une alexine déterminée, l'antigène possède un pouvoir antialexique nettement perceptible : il fixe à lui seul une quantité d'alexine suffisante pour empêcher l'hémolyse complète. Ces faits sont, nous le répétons tout à fait rares et quoi qu'il en soit c'est pour les éviter, que nous faisons toujours un témoin avec une dose d'alexine double

de celle indiquée par le dosage. Alors toute erreur ou toute interprétation fausse est impossible.

Notons enfin que dans tous les cas et contrairement à celui de l'antigène, ce dosage de l'alexine et du sérum hémolytique est naturellement le prélude indispensable de toute recherche de la réaction.

B. — EPREUVE DÉFINITIVE

L'opération préliminaire du dosage de l'alexine et du sérum hémolytique terminée, on dispose de la façon suivante la réaction proprement dite.

Méthode au sérum frais. — On dispose 4 tubes, dans chacun desquels on met : de I à IV gouttes de sérum, selon le résultat de l'épreuve préliminaire, complétant au volume de X gouttes à l'aide d'eau physiologique. On porte à l'étuve pendant une demi-heure. On ajoute ensuite dans chaque tube la dose de sérum hémolytique indiquée par l'épreuve préliminaire, I goutte de globules rouges humains au 1/8^e et de l'eau physiologique pour un nouveau total de X gouttes. On porte à l'étuve une nouvelle fois pendant une demi-heure, après laquelle on note les résultats.

Méthode au sérum chauffé. — On dispose également 4 tubes. Dans chacun on met II gouttes de sérum à examiner chauffé, la quantité d'alexine nécessaire indiquée par le dosage, des quantités croissantes d'antigène suivant le type : I goutte, II gouttes, III gouttes

et rien dans le quatrième tube, et l'on complète, pour chacun, en eau physiologique, pour un total de XX gouttes. On porte à l'étuve pour une durée d'une heure ; on ajoute ensuite le sérum hémolytique suivant quantité précisée par l'épreuve préliminaire et dans chaque tube 1 goutte de globules humains au 1/8 ; on lit les résultats au bout d'une nouvelle demi-heure d'étuve.

Quand la réaction est positive, il n'y a pas d'hémolyse dans les 3 premiers tubes : dans les cas contraire, le résultat est inverse : l'hémolyse étant complète, à chaque alternative, dans le tube 4 qui est témoin, et ne contient pas d'antigène.

Témoins. — Ajoutons que l'on s'entoure, dans chaque réaction, des précautions nécessaires, constituées par les témoins suivants :

Quatre tubes contenant une dose d'alexine double de celle indiquée par le titrage (nous avons vu plus haut pour quelle raison).

Quatre tubes contenant un sérum sûrement pestueux.

Quatre tubes contenant un sérum sûrement non pestueux.

Et comme, ainsi que nous l'avons dit, nous opérons chaque fois en double, sur le sérum frais et sur le sérum chauffé, l'opération présente ainsi des garanties doubles. C'est ce qui nous permet d'affirmer en connaissance de cause, toute la valeur des résultats que nous avons ainsi obtenus et que nous allons maintenant exposer.

CHAPITRE IV

STATISTIQUES ET RÉSULTATS DES EXPÉRIENCES

Notre but étant uniquement l'application de la réaction de fixation de l'alexine au diagnostic de la peste, nous ne relaterons pas ici en détail les résultats de nos très nombreuses expériences chez l'homme ou l'animal vaccinés. Nous nous bornerons simplement à dire que, dans tous ces cas, l'apparition d'une réaction de fixation positive ne manque jamais après un temps variable suivant les doses injectées et pour une période de temps qui, chez l'homme, représente à peu près la durée de l'immunisation, c'est-à-dire quatre à cinq mois en moyenne, pour la dose habituelle de 4 centimètres cubes. Mais à propos de l'immunisation artificielle, il est d'ores et déjà nécessaire d'établir de façon certaine un point particulier dont nous montrerons plus loin en détail toute l'importance ; à savoir que, chez un individu normal, l'injection préventive de sérum ne joue aucun rôle dans le résultat de la réaction.

Au seul point de vue clinique donc, le nombre de nos recherches s'élèvent à 150, en y comprenant le

total des cas positifs et des cas négatifs : c'est sur l'ensemble de leurs réponses que nous jugerons de la méthode en étudiant, en particulier, sa valeur, au point de vue de chacune des conditions que nous avons précédemment reconnues nécessaires, pour qu'elle ait toute l'importance que nous lui avons attribuée.

Spécificité de la réaction vis-à-vis de la maladie.

— En aucun cas, malgré la diversité des applications faites par nous, la réaction ne s'est montrée positive dans une maladie autre que la peste. Ainsi par exemple :

Des sérums syphilitiques aux divers périodes de la maladie, donnant une réaction de Wassermann nettement positive, ne nous ont jamais donné de résultat positif avec l'antigène pesteux. Il en fut de même avec des sérums de malades atteints de pneumonie, d'encéphalite léthargique, de méningite tuberculeuse, d'appendicite, de cancer de l'intestin et du rectum.

Les sérums des paludéens et des ictériques paraissent, on le sait, présenter des propriétés anti-alexiques avec des antigènes d'origines très différentes, capables par exemple de donner une réaction de Wassermann positive en l'absence de toute syphilis ; caractère que certains auteurs ont également voulu reconnaître aux sérums lactescents. Nous avons recherché la réaction de fixation avec l'antigène pesteux dans des cas de paludisme, d'ictère infectieux, de spirochétose ictéro-hémorragique ou le

sérums lactescents : les réponses furent toujours négatives.

Serrant de plus près la question au point de vue clinique, on a soumis à notre examen une quantité importante de sérums provenant d'individus atteints d'adénopathies de diverses natures : syphilitique, blennorragique, chancrelleuse, tuberculeuse, streptococcique, staphylococcique : l'examen fut toujours négatif.

Il n'est pas enfin jusqu'à cette curieuse maladie, la lymphogranulamatose subaiguë, que d'aucuns ont voulu rapprocher du bubon climatique pesteux et qui a fait récemment l'objet d'une étude clinique, dont nous n'ayons eu à examiner quatre sérums fournis par M. Legroux, et qui ne nous ait donné une réaction nettement négative.

Spécificités vis-à-vis de l'antigène. — Pas plus que la réaction n'est positive dans une autre maladie que la peste, pas davantage elle ne l'est avec un antigène autre que l'antigène pesteux. Nous avons vu pourtant dans les chapitres précédents que ces phénomènes de co-fixations entre bacilles voisins étaient fréquents dans les autres maladies d'une part, et que d'autre part nombreux sont les bacilles dont les caractères morphologiques obtenus par cultures ou inoculations aux animaux sont assez voisins de ceux du bacille de Yersin, pour que nous ayons pu redouter avec eux des qualités antigéniques comparables. Mais l'expérience a prouvé qu'il n'en était rien.

Comme Pasteurelloses, nous avons employé un bacille trouvé par M. Debré, et le bacille du choléra des poules, et comme bacille de la tuberculose des rongeurs quatre échantillons différents qui nous ont été obligeamment confiés par M. Legroux (B. lièvre, Rowland, Legroux, Pfeiffer). Dans tous ces cas, la réaction de fixation s'est montrée négative.

Enfin, nous avons préparé des antigènes avec les microbes ordinaires de la suppuration : streptocoque, staphylocoque, pneumocoque, pneumobacille de Friedlander. Jamais dans la peste, nous n'avons eu, avec ces antigènes, de réaction positive.

Constance dans les résultats. — Ici, de même que nous avons vu les résultats toujours négatifs dans les maladies différentes ou avec un antigène autre que la peste, de même nous retrouvons cette remarquable constance dans l'affirmative pour la peste et avec l'antigène pesteux. C'est ainsi que dans 64 cas où le diagnostic fut affirmé de différentes façons et pour 22 dequels l'examen bactériologique fut négatif, la réaction de fixation fut chaque fois positive, sauf en deux circonstances qui ne peuvent, aucunement d'ailleurs, infirmer la valeur intrinsèque de la technique préconisée : la première concerne un sérum qui possédait des propriétés hémolytiques vis-à-vis des globules rouges humains et la réaction se montra légèrement positive en employant un système hémolytique anti-mouton ; la seconde se rapporte à un sérum qui manifesta des propriétés antialexiques à ce point marquées, que le tube témoin lui-même n'hémolysait

pas ! Ces deux exceptions ne font donc que confirmer la règle établie.

La statistique précédente représente dans son ensemble toutes les formes cliniques auxquelles nous avons eu affaire, les formes graves et rapides, aussi bien que les formes moyennes, bénignes et même ambulatoires, et c'est certainement une des raisons de son puissant intérêt. Car d'une façon générale la réaction se montre aussi marquée dans tous les cas. Bien plus c'est surtout dans les formes qui ne présentent pas une sévérité excessive qu'elle acquiert toute sa valeur pratique, étant donnée dans nos pays la facilité d'une erreur de diagnostic dans ces conditions. Signalons à ce propos ce fait particulièrement instructif : on sait que la peste chez les femmes en état de puerpéralité comporte, toujours pour ainsi dire, un pronostic mortel avec accouchement prématuré. Or il nous a été donné d'observer un cas de peste ambulatoire assez bénin chez une femme enceinte de sept mois, pour permettre une évolution normale de la grossesse et un accouchement à terme dans de bonnes conditions. Et pourtant la réaction de fixation fut positive chez la mère, et chose intéressante au point de vue biologique général, elle fut également positive chez l'enfant, deux mois après sa naissance, c'est-à-dire quatre mois après la maladie maternelle.

A propos des formes graves insistons encore sur ce fait déjà signalé, que les injections de sérum antipesteux qu'il est souvent prudent de pratiquer étant

donné de tableau clinique et sans attendre les résultats de laboratoire, aussi rapides qu'ils puissent être, restent complètement sans effet sur les modalités de la réaction. De quelle importance pour la valeur pratique de la méthode n'est donc pas cette simple constatation !

Précocité d'apparition: constance dans la durée.— C'est encore une des caractéristiques intéressantes de la méthode que la précocité et la persistance de ses réponses ; on aurait pu craindre en effet que dans une maladie d'invasion souvent aussi brutale et d'évolution parfois si aiguë, la sensibilisatrice n'ait pu se manifester que trop tard et disparaître trop vite.

Nous l'avons vu apparaître au plus tôt le deuxième jour (1 fois), le troisième jour (2 fois), le quatrième jour (2 fois), mais il faut compter comme terme moyen le cinquième. Quant à sa persistance nous l'avons toujours trouvée identique à elle-même chez nos malades pendant de longs mois, si bien qu'il est difficile de préciser la date exacte de sa disparition. Nous pensons toutefois pouvoir affirmer qu'au bout de six mois elle est encore décelable dans le sérum *in vivo*. Quant à sa conversation *in vitro*, elle est encore plus longue et c'est ainsi que des sérums vieux de neuf mois, dont quelques-uns même n'étaient plus stériles, donnaient encore une fixation positive. On comprend aisément toute la portée de ces considérations pour le diagnostic rétrospectif de la maladie, qui n'est possible que de cette seule ma-

nière, et tout l'intérêt qui s'en dégage au point de vue épidémiologique et prophylactique international.

Simplicité, rapidité. — Enfin, et ceci est loin d'être à dédaigner, l'exposé de notre technique a permis de se rendre exactement compte de la simplicité des manipulations, qui n'est d'ailleurs qu'une conséquence directe de sa spécificité et de sa constance, et de la rapidité avec laquelle on obtient les résultats, puisque, dans les cas d'urgence, deux heures après la prise de sang il est possible de savoir avec une certitude complète si le malade est bien un pestiféré

CHAPITRE V

CONCLUSIONS

De l'exposé longuement détaillé de la question, il nous paraît donc légitime de conclure ainsi :

A côté de la clinique, souvent défailante, les méthodes jusqu'ici classiques du diagnostic de la peste, présentent souvent des défauts de principe ou des inconvénients d'application qui les rendent toutes passibles d'objections sans appel.

L'examen bactériologique pratiqué sur le pus du bubon, le résultat de l'hémoculture et celui de l'inoculation aux animaux, représente toujours, lorsqu'il est possible, une source de renseignements de grande valeur et permet souvent une certitude. Malheureusement même alors, sa technique est dangereuse, son interprétation difficile en raison de la variété des bacilles rappelant celui de Yersin, et ses réponses, en outre, sont lentes. Mais surtout, ses indications de choix sont rares : inutile lorsque le bubon a suppuré, il l'est encore dans les formes larvées, ambulatoires ou guéries, et se montre, par conséquent, complètement inefficace dans le diagnostic rétrospectif de l'affection.

Les méthodes sérologiques, employées jusqu'à présent, sont sujettes à des critiques encore plus graves par la complexité de leurs manipulations, leur absence complète de spécificité, le retard de leur apparition et la précocité de leur disparition. C'est ainsi que :

La bactériolyse, *in vitro*, du bacille pesteux par le sérum des pestiférés est inutile et contradictoire ; la mesure de l'index opsonique, de recherche difficile, fournit des résultats discutés et variables ; le précipito-diagnostic, de technique délicate, voit son champ d'application considérablement réduit en pratique par la nécessité de ne l'appliquer qu'en l'absence complète de toute sérothérapie ; la cuti et l'ophtalmo-réaction, de l'aveu même de leur auteur, est dénuée de tout intérêt ; l'agglutination enfin, est tardive, n'apparaissant en moyenne que dans le deuxième septenaire ; fréquemment spontanée et non spécifique ; d'un taux moyen dépassant rarement le 1/50, de disparition rapide, et de recherche dangereuse.

Par contre :

La réaction de fixation de l'alexine que nous proposons aujourd'hui, se montre, pour ainsi dire dans la généralité des circonstances, remarquablement spécifique, constante, précoce, durable, simple et rapide, ainsi que le montrent nettement nos statistiques et nos résultats, portant sur 150 cas :

Spécifique, car elle n'est positive que dans la peste et avec notre antigène pesteux ;

Constante, car elle est positive dans tous les cas positifs, négatifs dans tous les autres ;

Précoce, car elle apparaît déjà en moyenne au cinquième jour ;

Durable, car neuf mois après le début on peut encore la mettre en évidence *in vivo* comme *in vitro* ;

Simple, en raison même de sa spécificité qui restreint les causes d'erreur ;

Rapide, puisque sa réponse peut être obtenue en deux heures ;

Elle seule permet aussi le diagnostic de la peste dans toutes ses formes où il peut être encore douteux, graves comme bénignes, rapides comme lentes, frustes comme larvées ;

Elle seule, surtout, autorise le diagnostic rétrospectif.

Et pour toutes ces raisons, mérite incontestablement une place de choix dans la lutte contre le fléau, grâce à la précision avec laquelle elle permet de solutionner en partie les divers problèmes cliniques, épidémiologiques et prophylactiques.

Vu : le Président de la thèse,
F. BEZANÇON

Vu : le Doyen,
ROGER

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
P. APPELL

NOMENCLATURE ALPHABÉTIQUE

DES AUTEURS CITÉS

	Pages		Pages
Abrami.....	17	Cotoni.....	17
Achard.....	16	Damperoff.....	49
Amako..... 45,	49	Danyasz.....	42
Armand Delille.....	49	Debains.....	17
Arthus..... 12,	19	Diehl.....	49
Ascoli.....	17	Dieudonné.....	38
Aujeski.....	42	Dopter.....	32
		Douglas.....	16
Bauer.....	49	Dujardin-Beaumetz..... 7, 8,	39
Behring..... 13, 18,	22	Durham.....	16
Bellot.....	17		
Bensaude.....	16	Félix.....	17
Besredka.....	19	Finckler.....	26
Bordet.. 10, 14, 16, 17, 18, 24,		Flexner.....	16
28, 31, 32,	48	Fornario.....	49
Breton.....	18	Foster.....	44
Brissaud.....	17	Friedberger.....	19
Brück..... 19, 32,	49	Friedlander.....	42
Bruyant.....	19	Friedrichsen.....	42
Büchner.....	26		
Bullock.....	16	Gaffky.....	42
		Gamaleia.....	23
Calmette... 12, 18, 19, 32, 49,	55	Gärtner.....	42
Castellani..... 17,	54	Gastinel.....	43
Césari.....	17	Gengou..... 18,	32
Chalmers.....	54	Gotschlich.....	42
Chamberland.....	12	Grüber.....	16
Charrin.....	16	Guérin.....	18
Cimminos.....	42	Grysez.....	49
Commission allemande contre la peste.....	46		
Commission anglaise des Indes.....	47	Héricourt.....	13
Congrès international de Moukden.....	53	Hetsch.....	44
Costa.....	33	Horiouchi.....	52
		Houston.....	16
		Issaëff..... 18,	23
		Issatschenko.....	42

	Pages		Pages
Joltrain.....	8, 17, 46	Richet	13, 19
Kitasato.....	13	Roger.....	16
Klein.....	42	Roux.....	12, 13
Koch.....	42	Row	44
Kolle.....	38, 44, 46, 49	Rubinstein.....	54
Kossel.....	42	Schatiloff	49
Kraus.....	16, 17, 54	Schilling.....	42
Krumbein.....	49	Schmitter.....	42
Kutscher.....	42	Schtschastny.....	47, 51
Lamb	44	Schubert.....	32
Legroux.....	68, 69	Schütz.....	32
Le Sourd.....	32	Shibayama.....	47
Levaditi.....	54	Sicard.....	16
Lignières.....	42	Sicre.....	32
Macé.....	42	Simond.....	54
Markl.....	44	Skschivan.....	42, 44
Mantoux.....	19	Stern.....	49
Martin.....	17, 32	Strong.....	44, 48
Martini.....	46	Taylor.....	16
Massol.....	18, 32	Tchiotovitch.....	17
Metchnikoff.....	13, 16	Toyama.....	42
Miessner.....	17	Trautmann.....	42
Milan Sachs.....	42	Troisier.....	33
Milhit.....	16	Truche.....	17
Moses.....	50	Uhlenhuth.....	18
Neisser.....	32	Uriarte	46
Neumann.....	42	Vagedes	46
Nicolle (Ch.).....	32	Vaudremer.....	17
Nicolle (M.).....	17, 46, 55	Vincent.....	17
Nissen	18, 19, 22	Von Pirquet.....	19
Otto.....	38	Wagon	49
Overbeck.....	42	Wassermann.....	19, 32, 38, 49
Parvu.....	32	Weill.....	17
Pasteur.....	11	Weinberg.....	32
Pettit	17, 32	Wienstein.....	44
Pfeiffer.....	18, 23, 42	Widal.....	15, 16, 17, 19, 32
Pfeiler.....	17	Windsor.....	44
Portier.....	19	Wright	15, 16, 17, 44
Preicz.....	42	Wyssokowitz.....	46
Prior.....	26	Xylander.....	42
Rapport russe sur la peste à Odessa.....	47	Yersin	12, 38
Ravant.....	15	Zabolotny	46
Reilly.....	43	Zlatogoroff.....	42

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
PRÉFACE.....	7

CHAPITRE PREMIER

Aperçu général de l'évolution de nos connaissances sur l'immunité.....	II
Leurs applications pratiques au diagnostic, au traitement et à la prophylaxie des maladies infectieuses ; les espoirs que l'on pouvait en déduire pour l'étude de la peste	II

CHAPITRE II

Etude critique générale de la réaction de fixation de l'alexine.....	22
La bactériolyse. Les expériences de Behring et Nissen. Le phénomène de Pfeiffer. Les expériences de réaction des sérums de Bordet. Sensibilisatrice et alexine. Caractères respectifs de ces deux substances ou propriétés.	
L'hémolyse. La découverte par Bordet des sérums hémolytiques. L'hémolyse spécifique comme témoin visible de la fixation de l'alexine sans les immunsérums. Applications diagnostiques.	
Les conditions idéales indispensables pour que la réaction de fixation de l'alexine ait toute sa valeur pratique. Conditions par rapport aux autres moyens de diagnostic. Conditions par rapport à sa nature particulière : spécificité vis-à-vis de l'affection et vis-à-	

vis de l'antigène ; constance dans les résultats ; rapidité d'apparition et persistance suffisante ; simplicité d'application. Alors son interprétation est facile et sa portée indiscutable	22
--	----

CHAPITRE III

La réaction de fixation de l'alexine dans la peste.....	37
Etude critique des méthodes classiques de diagnostic de la peste. Examen bactériologique. Technique. Recherche du cocco-bacille dans le pus du bubon. Hémoculture. Inoculation aux animaux. Difficultés de son identification : bacilles voisins. Impossibilité de sa découverte dans le bubon suppuré ; dans les formes bénignes ; dans les formes ambulatoires ; ou après guérison. Méthodes sérologiques : bactériolyse du bacille pesteux par le sérum de malades ou deconvalescents ; étude de l'index opsonique ; cuti et ophtalmo-réaction ; précipito-diagnostic ; agglutination. Inconvénients respectifs de ces procédés, pratiquement abandonnés.	
Etude historique de la réaction de fixation dans la peste. Son application à l'étude des sérums d'animaux vaccinés, et au diagnostic de la maladie. Médiocrité des résultats : négation des conclusions.	
Etude technique détaillée de notre méthode.....	37

CHAPITRE IV

Statistiques et résultats des expériences.....	66
--	----

CHAPITRE V

CONCLUSIONS.....	73
Nomenclature alphabétique des auteurs cités.....	77

